

Caio Ambrósio Leal Dutra

**CONTRIBUIÇÕES TAXONÔMICAS E FILOGENÉTICAS AO
ESTUDO DE PTERULACEAE (AGARICALES) CORALOIDES**

Dissertação submetida ao Programa de Pós-graduação em Biologia de Fungos, Algas e Plantas da Universidade Federal de Santa Catarina para a obtenção do Grau de Mestre em Biologia de Fungos, Algas e Plantas.
Orientadora: Dra. Maria Alice Neves
Coorientador: Dr. Bryn Dentinger

Florianópolis
2015

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Leal-Dutra, Caio Ambrósio
CONTRIBUIÇÕES TAXONÔMICAS E FILOGENÉTICAS AO ESTUDO DE
PTERULACEAE (AGARICALES) CORALOIDES / Caio Ambrósio Leal-
Dutra ; orientadora, Maria Alice Neves ; coorientador,
Bryn T. M. Dentinger. - Florianópolis, SC, 2015.
75 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa
Catarina, Centro de Ciências Biológicas. Programa de Pós-
Graduação em Biologia de Fungos, Algas e Plantas.

Inclui referências

1. Biologia de Fungos, Algas e Plantas. 2. Fungos. 3.
Biodiversidade. 4. Coraloides. 5. Basidiomycota. I. Neves,
Maria Alice. II. Dentinger, Bryn T. M.. III. Universidade
Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em
Biologia de Fungos, Algas e Plantas. IV. Título.

Este trabalho é dedicado à memória de Edred John Henry Corner por toda sua contribuição à ciência.

AGRADECIMENTOS

Hoje vejo como minha mente mudou desde que saí da graduação e entrei para o mestrado, tenho plena consciência de como amadureci academicamente. Agradeço primeiramente à Evolução pelo telencéfalo altamente desenvolvido e o polegar opositor.

Agradeço à minha orientadora Maria Alice Neves por me convidar para conhecer o Micolab após a Micologia de Campo e me chamar para realizar o mestrado. Me colocar em contato com outros pesquisadores durante este processo. Pela paciência e disposição em me orientar. E principalmente por acreditar em mim, mesmo quando nem eu acreditava tanto.

Ao Dr. Bryn Dentinger, meu coorientador que mesmo à distância teve um papel fundamental no desenvolvimento deste projeto, por me ajudar com o que tivesse ao seu alcance.

Ao Mateus Reck por todas as discussões acerca do trabalho, viagens, piras e acertos. Por me abrir os olhos e me acalmar quando tudo parecia perdido. Pelas tardes na Biomol tentando resolver os enigmas moleculares e corrigir todo aquele tetris (alinhamentos). Pelas coletas e materiais coletados. Pelas cervejas compartilhadas. E pelas conversas jogadas fora. Obrigado meu amigo.

Ao Ricardo Drechsler-Santos pelas discussões e esclarecimentos. Pelas bibliografias sugeridas. Pelas cervejas bebidas e os churrascos assados.

À família Micolab pelas discussões nas reuniões, conversas, almoços no RU, cafezinho da tarde e alvoroço nas microscopias. Pelas ajudas nas coletas e pelos materiais coletados. Agradeço à galera que já foi: Diogo amigão, Valéria, Carlitos, Marco, Salo, Altí e Melissa e à galera que ainda está por aqui: Fernando, Raquel, Gesi, Ari, Cele, Meli, Jaime e Geneslau. Ao pessoal da graduação: Fernandinha, Julia, Marília, Joane, Gustavo, Felipe, Duda, Lari. Sou muito agradecido a todos.

Obrigado ao Felipe Ruppenthal pelas belíssimas ilustrações que estão presentes neste trabalho.

Aos professores do PPGFAP pelas aulas lecionadas.

À Pri, da secretaria do PPG, por resolver muitos pepinos e pela ajuda burocrática.

David McLaughlin pelas bibliografias.

Aos externos ao Micolab que me ajudaram em coletas. Zé Lelé, Cremilixo, Bolo Doido pela coleta de Minas. Ao PARNA da Tijuca principalmente a Katyucha. À Lina pela ajuda e Tia Vera e Bruno pelo

apoio na coleta do Rio. À Fazenda do Canga, Neusa M. P. F. Oliveira, Miguel C. Oliveira e José Maria de Oliveira.

Aos amigos que enviaram coletas Dirce Komura, Emerson Gumboski, Eduardo Fazolino e Alice Gerlach.

Por toda a bibliografia que estava fora do meu alcance, спасибо Sci-hub.org!

Agradeço aos meus pais pelo incentivo aos estudos e a continuar a busca pelos meus sonhos. À minha irmã pelas conversas acadêmicas e por me dar um lindo sobrinho nesse meio tempo.

À Lina pela ajuda e incentivo, principalmente na finaleira do processo. Com muito amor, obrigado!

À Rep. BR040, Toninho, Six e Minino, e à Kzona por me fazer sentir em casa aqui na Ilha.

Ao Bom Bloquiui por me dar esperanças de que iria conseguir.

Pela inspiração, muito obrigado, Waters, Gilmour, Barrett, Wright, Mason, Lennon, McCartney, Starr e Harrison!

À Kud, Wälls, BrewDog, Schornstein, Desterro e outras por engarrafarem alegria.

Aos Galápagos' Finches pela poesia biológica.

Ao amiguiui da UFMG que esteve sempre por perto: Cajuru, Perillo, Véia, Goiás, Prezzunto, Motocleiclei, Gingolixo, Callithrix o Mico, Pedrão, Tulhoba, Bráulio, Alf, Potão, Bê, Viné, Heron, Doug, Empada, Lion, Manjuba, Momô, Elisão, Perereco, Pomarola, Russo, entre outros, valeu.

Ao Aristóteles Góes-Neto e o Projeto BRBOL pelos sequenciamentos do capítulo 2.

À Universidade Federal de Santa Catarina e ao PPG FAP pela estrutura e apoio para a realização do projeto.

Aos seguintes herbários e colaboradores FLOR (Silvia Venturi), RB (Aníbal Carvalho), BPI (Shannon Dominick), MBM (André de Meijer).

À CAPES pela bolsa, o que me possibilitou a dedicação exclusiva para este trabalho.

Finalmente agradeço á banca avaliadora Juliano Baltazar, Larissa Trierveller, Ricardo Drechsler-Santos e Pedro Fiaschi por aceitarem o convite de avaliarem minha dissertação e colaborarem para meu desenvolvimento.

A todos estes, e outros, fico muito agradecido!

Só há um caminho: de maneira geral, a decomposição. (DINIZ, LUCAS CARVALHO BOLA, 2013).

RESUMO

Os fungos possuem um papel ecológico fundamental na decomposição e ciclagem de nutrientes. Agaricales inclui um grande grupo de fungos macroscópicos encontrados na natureza e entre seus membros variam desde fungos de vida livre decompositores a simbiontes ectomicorrízicos. Dentre os simbiontes, Pterulaceae chamou atenção recentemente devido a descoberta de espécies cultivadas por formigas. Das 92 espécies de Pterulaceae pelo menos 49 possuem registros de ocorrência na Região Neotropical e 26 no Brasil. A presente dissertação trata do estudo das espécies de Pterulaceae que ocorrem no Brasil sob duas abordagens. O capítulo 1 traz uma abordagem taxonômica, com estudos morfológicos e descrições de espécies, com a apresentação de uma espécie nova, *Pterula harrisonii*, um novo registro para a Região Neotropical, *Deflexula lilaceobrunnea*, e um novo registro para o Brasil, *Pterula velohorta*. O capítulo 2 traz uma abordagem filogenética, com a apresentação de três hipóteses filogenéticas baseadas em dois marcadores moleculares (ITS e LSU), onde é proposta um novo arranjo para a família. Através da análise dos resultados sete clados são propostos para incluir espécies que originalmente pertenciam a *Deflexula*, *Pterula* e *Pterulicium*. Este é o primeiro trabalho de filogenia molecular proposto para resolver as relações filogenéticas de Pterulaceae, abrindo o caminho para futuros estudos sobre a família.

Palavras-chave: Afiloforoides. Agaricomycetes. Biodiversidade. Basidiomycota. Clavarioides. Coraloides. Filogenia. Pteruloides. Sistemática.

ABSTRACT

Fungi have a key ecological role in decomposition and nutrient cycling. Agaricales includes a large group of macroscopic fungi found in nature and its members ranges from free-living decomposers to ectomycorrhizal symbionts. Among the symbionts, Pterulaceae recently drew attention for the discovery of some species being cultivated by ants. From 92 species of Pterulaceae at least 49 are reported to occur in the Neotropical Region and 26 in Brazil. In this work we studied species of Pterulaceae occurring in Brazil using two approaches. The chapter 1 is a taxonomic approach including morphological studies and species descriptions where a new species to science is presented, *Pterula harrisonii*; one new record for the Neotropical Region, *Deflexula lilaceobrunnea*; and one new record for Brazil, *Pterula velohorta*. In chapter 2 a phylogenetic study is presented showing three phylogenetic hypotheses based on two molecular markers (ITS and LSU), where a new arrangement is proposed for the family. The analysis of these results revealed seven clades harboring species that originally belonged to *Deflexula*, *Pterula* and *Pterulicium*. This is the first study of molecular phylogeny proposed to resolve the phylogenetic relationships of Pterulaceae, paving the way for future studies on the family.

Keywords: Aphylophoroid. Agaricomycetes. Biodiversity. Basidiomycota. Clavarioid. Coralloid. Phylogeny. Pteruloid. Systematics.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	1
1.1	HISTÓRICO DE PTERULACEAE	1
1.1.1	Um breve histórico da família no Brasil	2
1.2	ESTUDOS MOLECULARES	3
1.3	ECOLOGIA	3
1.4	DISTRIBUIÇÃO	4
1.5	MORFOLOGIA	5
1.5.1	Características macroscópicas	5
1.5.1.1	Basidioma	5
1.5.1.2	Himenóforo	5
1.5.1.3	Estipe	5
1.5.2	Características microscópicas	6
1.5.2.1	Esporos	6
1.5.2.2	Himênio	6
1.5.2.3	Estipe	6
2	OBJETIVOS	7
3	MATERIAL E MÉTODOS.....	7
4	RESULTADOS	11
4.1	CAPÍTULO 1: NEW AND NOTEWORTHY SPECIES OF CORALLOID <i>PTERULACEAE</i> (<i>AGARICALES</i>) FROM BRAZIL	11
4.2	CAPÍTULO 2: CONTRIBUIÇÕES À FILOGENIA MOLECULAR DE ESPÉCIES CORALOIDES DE PTERULACEAE (<i>AGARICALES</i>).....	41
5	CONSIDERAÇÕES FINAIS	57
	REFERÊNCIAS	59

1 INTRODUÇÃO

O reino Fungi comporta organismos com ampla diversidade morfológica e importantes papéis ecológicos, principalmente a decomposição e ciclagem de nutrientes (BEGON; TOWNSEND; HARPER, 2007). Atualmente, as estimativas mais aceitas sobre a diversidade total deste reino variam de 1,5 a 5,1 milhões de espécies (BLACKWELL, 2011; HAWKSWORTH, 2004).

Agaricales Underwood (Basidiomycota R.T. Moore) abriga aproximadamente 13 mil espécies de fungos (KIRK et al., 2008), desde decompositores de matéria orgânica, simbiontes micorrízicos, patógenos até fungos com relações mutualísticas com formigas, como é o caso de Pterulaceae Corner.

Macroscopicamente a família é caracterizada por seus basidiomas de hábito coraloide eretos ou deflexos, filiformes, ramificados ou simples, com tamanho variando de 1,5 a 120 mm e de coloração branco-amarelada a creme, com estipe às vezes marrom escuro, crescendo diretamente no solo humoso/arenoso ou decompondo serapilheira. Microscopicamente os basidiomas são constituídos por um sistema hifal dimítico, hifas esqueléticas hialinas ou levemente amarronzadas; hifas generativas hialinas, geralmente fibuladas; esporos de coloração clara, lisos e inamiloides em solução de Melzer (CORNER, 1950, 1970).

1.1 HISTÓRICO DE PTERULACEAE

Pterula, o gênero tipo da família, foi mencionado pela primeira vez por Fries (1821) que indicou *Clavaria penicillata* Bull., uma espécie *incertae sedis* (*genus inquirendum*), como talvez pertencente ao gênero novo, *Pterula*, sem mesmo fazer a nova combinação. Entretanto, o gênero somente foi validado quando Fries (1825) publicou sua diagnose.

A tipificação deste gênero foi mal interpretada durante muito tempo, tendo sido tratada erroneamente no trabalho de Lloyd (1919), e finalmente resolvida por Corner (1952c) que explicitou cada passo dos trabalhos de E.M. Fries com o gênero, desde sua primeira menção ao nome até a exclusão de *Pterula penicillata* (Bull.) Fr. em Fries (1849), concluindo que a espécie tipo seria *Pterula plumosa* (Schw.) Fr. por ter sido a primeira combinação feita a partir da validação do gênero. *Pterula* então foi alocada em Clavariaceae Cheval. (Aphyllophorales) (FRIES, 1830).

Com o desenvolvimento dos estudos de sistema hifal, Corner (1950), em sua Monografia de *Clavaria* e Gêneros Relacionados, propôs

os gêneros *Deflexula* Corner, *Dimorphocystis* Corner e *Pterulicium* Corner, e recircunscreeu *Pterula*, agrupando-os na série pteruloide, que reunia fungos coraloides com sistema hifal dimítico. Em Corner (1952) foram descritos *Allantula* Corner e *Parapterulicium* Corner, além de diversas espécies novas dentro do grupo, o que levou Donk (1964) a sugerir a criação da subfamília Pteruloideae Donk comportando tais espécies dentro de Clavariaceae. Donk (1964) ainda sinonimizou *Dimorphocystis* em *Actiniceps* Berk. & Broome. Ao publicar o suplemento para sua monografia, Corner (1970) finalmente elevou Pteruloideae ao nível de família (Pterulaceae), mantendo estes seis gêneros dentro da mesma.

De acordo com a circunscrição de Corner (1970) para Pterulaceae e recentes estudos moleculares apresentados a seguir, atualmente são aceitos cinco gêneros coraloides na família: *Allantula* Corner (1 spp.), *Deflexula* Corner (10 spp.), *Parapterulicium* Corner (3 spp.), *Pterula* Fr. (77 spp.) e *Pterulicium* Corner (1 spp.). Das 92 espécies conhecidas para a família, pelo menos 49 ocorrem na Região Neotropical e 26 possuem registro de ocorrência no Brasil (CORNER, 1950, 1952a, 1952b, 1970; DENTINGER; MCLAUGHLIN, 2006; HENNINGS, 1897, 1904; ROBERTS, 1999).

1.1.1 Um breve histórico da família no Brasil

Entre o fim do século XIX e o início do século XX, diversos naturalistas realizaram expedições de coleta no Brasil, o que possibilitou a proposição de novas espécies de *Pterula* por outros pesquisadores, como P.C. Hennings e G. Bresadola (FIDALGO, 1968). O sul do Brasil foi amplamente amostrado por J. Rick, E.H.G. Ule e A. Möller, que enviaram suas coletas a especialistas estrangeiros para que fossem estudadas. Ule e Möller ainda coletaram em outros lugares, como nos estados do Mato Grosso e Amazonas. As coletas, então, foram depositadas em diversos herbários dos EUA e da Europa. Infelizmente, com a II Guerra Mundial, o Museu de Berlim foi bombardeado, onde possivelmente estariam depositadas as coleções estudadas por P.C. Hennings, dentre as quais alguns tipos de *Pterula* (FIDALGO, 1968; HENNINGS, 1897; 1904).

E.J.H. Corner foi o maior estudioso dessa família. No Brasil, entre as décadas de 1940 e 1950 fez diversas coletas, principalmente no Rio de Janeiro onde coletou o único espécime de *Allantula* conhecido, além de estudar diversos materiais coletados por J. Rick e outros naturalistas (CORNER, 1950, 1952a, 1952b, 1970).

1.2 ESTUDOS MOLECULARES

Com o avanço dos estudos moleculares, uma nova classificação foi proposta e Pterulaceae foi reposicionada de Aphyllophorales para Agaricales (MATHENY et al., 2006; PINE; HIBETT; DONOGHUE, 1999), tendo como grupo irmão Stephanosporaceae Oberw. & E. Horak, um grupo de fungos amplamente distribuído, que se caracteriza pelos hábitos gasteroide e corticioide (LARSSON; LARSSON; KÖLJALG, 2004). A sinonimização de *Dimorphocystis* em *Actiniceps* foi comprovada e o gênero foi removido da família (DENTINGER; MCLAUGHLIN, 2006) e, por fim, alguns gêneros de fungos corticioides (p. ex. *Radulomyces* M.P. Christ e *Aphanobasidium* Jülich) foram inseridos (MATHENY et al., 2006; LARSSON, 2007).

Recentes estudos com pteruláceas coraloides envolvendo o marcador molecular LSU (subunidade maior do ribossomo) sugerem que *Deflexula*, *Pterula* e *Pterulicium* não formam grupos naturais mas apresentam, na realidade, um arranjo parafilético/polifilético nas filogenias moleculares (MUNKACSI et al., 2004; DENTINGER et al., 2009). Estes estudos também introduziram duas espécies peculiares à família, que Dentinger (2014) descreveu como *Pterula nudihorta* Dentinger e *P. velohorta* Dentinger, sendo que nestas duas espécies apenas o micélio assexuado é conhecido, e foram descobertas sendo cultivados por formigas do grupo *Apterostigma pilosum* (CHAPELA et al., 1994).

1.3 ECOLOGIA

Apesar de sua principal atuação na natureza ser como decompositores diretos de folhas, galhos e troncos, algumas espécies de Pterulaceae podem ser húmicas/terricolas ou até mesmo serem cultivadas por formigas (CORNER, 1970; MUNKACSI et al. 2004; VILLESEN et al. 2004).

A tribo Attini Smith é bem conhecida pelas formigas cortadeiras (*Atta* Fabricius e *Acromyrmex* Mayr), sendo consideradas o grupo de herbívoros dominantes dos neotrópicos. Entretanto, elas não se alimentam das folhas cortadas, mas sim, estas são levadas ao ninho e servem de substrato onde o micélio somático dos fungos é cultivado, sendo este micélio utilizado para sua alimentação (HÖLLDOBLER; WILSON, 1990; MUELLER. et al., 2001). Como o fungo raramente forma alguma estrutura sexual quando está sendo cultivado no ninho, a

identificação taxonômica desta fase dos organismos se torna um desafio para os pesquisadores (MUELLER, 2002; MUNKACSI et al., 2004).

Os fungos cultivados pelas Attini são divididos em quatro grupos de cultivares diferentes, convencionalmente denominados G1, G2, G3 e G4, em que cada número representa a ordem em que os cultivares foram descobertos (MUELLER, 2002). As Attini "superiores", grupo onde se incluem as cortadeiras, cultivam o grupo G1 (*Leucoagaricus gongylophorus* Möller). O grupo G3 é cultivado pelas Attini "inferiores" e é representado por fungos da tribo Leucocoprinae (Agaricales) (CHAPELA et al., 1994; SCHULTZ; BRADY, 2008). Os cultivares G2 e G4 (*P. velohorta* e *P. nudihorta*, respectivamente) são cultivados por um pequeno grupo de espécies de *Apterostigma* do grupo "*pilosum*" (MUELLER, 2002; MUNKACSI et al., 2004).

Até 2004 acreditava-se que os cultivares de *Apterostigma* estavam relacionados à Tricholomataceae Lhotsy, filogeneticamente próxima aos cultivares G1 e G3 (CHAPELA et al., 1994). No entanto, Munkacsi et al. (2004) e Villesen et al. (2004) compararam sequências de diversos euagaricoides, incluindo alguns membros de Pterulaceae, com sequências de simbiontes de formigas *Apterostigma* do grupo "*pilosum*". Os resultados sugeriram que os fungos cultivados por estas formigas pertencem a Pterulaceae.

Essa troca de grupos cultivados de cogumelos lamelados para grupos mais distantes filogeneticamente, como os fungos coraloides pteruláceos (MUNKACSI et al., 2004; VILLESEN et al., 2004) ocorreu apenas uma vez na história evolutiva das Attini, entre 10 e 20 milhões de anos atrás, em grupos de *Apterostigma*. Este evento continua pouco esclarecido do ponto de vista evolutivo (SCHULTZ; BRADY, 2008).

1.4 DISTRIBUIÇÃO

Pterulaceae é uma família de distribuição pantropical. A não ser por algumas poucas espécies encontradas em regiões temperadas, a maioria dos membros da família é tropical e subtropical. Devido, principalmente, à atuação de alguns pesquisadores como Corner, os registros destas espécies estão relacionados às áreas mais amostradas, como as ilhas da Indonésia, Malásia e os Neotrópicos. O Brasil foi registrado como localidade tipo de pelo menos 19 espécies e duas variedades da família.

1.5 MORFOLOGIA

Pterulaceae possui características macro e microscópicas diagnósticas como o basidioma filiforme delgado de coloração clara, esporos hialinos e sistema hifal dimítico com hifas generativas fibuladas e esqueléticas de parede engrossada. Poucas espécies saem desse padrão, e a combinação de caracteres ajuda no enquadramento dos táxons na família.

Algumas das características mais marcantes dos membros de Pterulaceae são discutidas a seguir.

1.5.1 Características macroscópicas

1.5.1.1 Basidioma

Os basidiomas são geralmente filiformes e raramente apresentam mais de 2mm de espessura. Em altura não passam de 12cm, sendo que a maioria das espécies conhecidas tem menos de 5cm. Podem ser eretos (como em *Pterula*) ou pendentes (como em *Deflexula*). A coloração pode variar de totalmente branco a lilás, como em algumas espécies de *Deflexula*, creme a ocráceo pálido como na maioria das *Pterula* e marrom pálido a creme rosado como em *P. juruensis* (Henn.) Corner. Podem ser simples como *P. epyphilla* Corner, ou ramificados, como *P. multifida* (Cheval.) Fr. Podem crescer de forma esparsa ou gregária, até cespitosa. Em *Pterulicium* é marcante a formação de uma camada corticioide na base do basidioma.

1.5.1.2 Himenóforo

O himenóforo é liso e geralmente anfígeno, ou seja, abrange quase toda a porção visível do fungo, a partir do fim do estipe ao ápice do basidioma. A superfície pode ser lisa ou pruinosa e a coloração é a mesma descrita para os basidiomas.

1.5.1.3 Estipe

O estipe varia de tamanho podendo ter de 0,01 a 2,5 cm, e é melhor definido microscopicamente, sendo delimitado por onde começa a formação do himênio. Ele pode apresentar a mesma cor do himenóforo ou ter uma coloração mais escura, geralmente castanho clara. Pode ser glabro como em *P. stipata* Corner, velutíneo ou até tomentoso, como em *P. juruensis* e *P. taxiformis* Mont. Algumas espécies apresentam um disco micelial na base do estipe, outras são erupentes. *Pterula scleroticola* Berthier apresenta um pequeno esclerócio na base.

1.5.2 Características microscópicas

1.5.2.1 Esporos

Os esporos têm tamanhos variados de quatro e meio a 20 micrômetros de comprimento, são geralmente hialinos, lisos, frequentemente com apículo proeminente. A forma pode variar de globosa (*Deflexula lilaceobrunnea* Corner), elipsoide, subamigdaliforme até cilíndrica. Algumas espécies apresentam esporos angulares quando em vista transversal, como *Deflexula subsimplex* (Henn.) Corner que apresenta de 4 a 6 ângulos. Os esporos de *Deflexula sulcispora* Corner apresentam sulcos longitudinais na superfície. Em alguns materiais a observação de esporos ou basídios maduros é difícil, tanto que Corner (1950) mencionou que algumas espécies talvez esporulassem durante a noite e, como as coletas geralmente são realizadas durante o dia, provavelmente por esse motivo estas estruturas podem não ser tão facilmente visualizadas.

1.5.2.2 Himênio

O himênio pode apresentar, além dos basídios e basidióolos, também cistídios. Em suas descrições Corner parece ter ignorado elementos de parede fina, semelhantes a cistídios, pouco abundantes ao longo do basidioma, já que são relativamente fáceis de observar mas não foram citados em suas publicações. Uma característica bem marcada por Corner, em seus estudos, é o espessamento do himênio ao longo do basidioma por estratificação, entretanto esta característica não é de fácil percepção.

1.5.2.3 Estipe

Microscopicamente o estipe pode apresentar caulocistídios de variados tamanhos, atingindo até 160µm, o que dá o aspecto velutíneo macroscópico em alguns táxons.

Além disso, a superfície do estipe de algumas espécies de Pterulaceae apresenta a parede das hifas acastanhadas e aglutinadas sem um formato definido formando um pseudoparênquima chamado por Corner (1950, 1952b, 1970) de esclerotoide. No caso de *Pterula stipata* esta superfície é regular com hifas quase retangulares, como um prosênquima. As espécies de *Pterula* do Grupo B apresentadas por Corner (1970) apresentam esta superfície denominada esclerotoide, em que as paredes das hifas são marcadas por linhas sinuosas, lembrando a superfície de um esclerócio.

2 OBJETIVOS

Este projeto teve como objetivo estudar as espécies de fungos coraloides pertencentes à família Pterulaceae que ocorrem no Brasil, através de levantamento bibliográfico, revisão de materiais de herbários e novas coletas. Abordando análises taxonômicas e filogenéticas dos espécimes em questão.

3 MATERIAL E MÉTODOS

Para a realização deste projeto foi executada exaustiva revisão bibliográfica para o levantamento das espécies previamente registradas para o país, revisão de coleções dos herbários RB, BPI e MBM para comparação de espécimes e determinação de espécimes não identificados, além de novas coletas para o estudo taxonômico de materiais frescos.

Para as descrições macroscópicas foram seguidos os procedimentos de Largent (1986) e nomenclaturas de Corner (1950, 1952a, 1952b e 1970). Os códigos de cores (ex. 5YR 8/4 to 7/3) seguiram a tabela de cores Soil Color Chart (Munsell, 1975). Os materiais foram desidratados em uma secadora de frutas (Total Chef TCFD-05 Deluxe) por aproximadamente 12 horas.

As descrições microscópicas seguiram os procedimentos de Largent et al. (1977) adaptados para o tamanho das Pterulaceae. Nestas adaptações foram utilizadas agulhas de insulina de ponta fina, no lugar de lâmina de barbear para destrinchar, longitudinalmente, os basidiomas após terem sido reidratados em KOH, por exemplo. Lâminas semipermanentes foram produzidas com cortes dos basidiomas reidratados em H₂O, KOH ou Melzer e corados em Vermelho Congo, ou Floxina, para melhor visualização das microestruturas desejadas.

Análises de microscopia eletrônica de varredura (MEV) foram realizadas no Laboratório Central de Microscopia Eletrônica da UFSC (LCME-UFSC).

Os desenhos foram realizados a mão livre a partir de fotografias feitas em campo ou diretamente das microscopias.

Os materiais utilizados nos estudos realizados nos dois capítulos a seguir estão listados na Tabela 1 abaixo.

Os exemplares coletados durante este projeto foram depositados nos herbários FLOR (Universidade Federal de Santa Catarina) e RB (Jardim Botânico do Rio de Janeiro). Os acrônimos dos herbários seguem Thiers [atualizado continuamente].

Tabela 1: Materiais coletados e utilizados no projeto. *Utilizados em estudos taxonômicos; #Utilizados na árvore de ITS (cap. 2); §Utilizados na árvore de LSU (cap. 2); #§Utilizados na árvore combinada (cap. 2); em negrito materiais provenientes do GenBank; em itálico materiais não tombados em herbário.

Espécie	Materiais
<i>Deflexula fascicularis</i>	KM167225 [#] , KM167227 [#] , AY458122 [§]
<i>Deflexula lilaceobrunnea</i>	RB525019 ^{#§} , FLOR0056455 [*] , CALD116 [*]
<i>Deflexula secundiramea</i>	BPI295301 [*] , FLOR0056373 ^{#§} , FLOR0056419 ^{#§} , FLOR0056406 ^{#§} , FLOR0056428 ^{#§} , FLOR0056412 [§] , FLOR0056402 [§] , FLOR0056403 [§] , FLOR0056404 [§] , FLOR0056429 [§] , BZL44 ^{#§}
<i>Deflexula subsimplex</i>	MBM389478 [*] , BPI295501 [*] , FLOR0056393 ^{#§} , FLOR0056394 ^{#§} , CALD126 [*] , FLOR0056423 ^{#§} , KM160100 [#] , KM167233 [#] , AJ406572[§]
<i>Deflexula subsimplex</i> var. <i>multifida</i>	MBM389462 [*]
<i>Deflexula sulcispora</i>	BPI333273 [*]
<i>Deflexula</i> sp.	KM167228 [#] (como <i>D. purpurea</i>)
<i>Parapterulicium octopodites</i>	BPI333063 [*] , FLOR0056449 [*] , FLOR0056460 [*]
<i>Parapterulicium subarbusculum</i>	CALD108 [*] , CALD109 [*] , CALD117 [*] , CALD118 [*] , FLOR0056456 [*] , FLOR0056457 [*] , FLOR0056458 [*] , FLOR0056459 [*]
<i>Pterula brunneosetosa</i>	MBM389452 [*]
<i>Pterula caricispendulae</i>	KM155784 [#]
<i>Pterula crassispora</i>	KM121378 [#] , KM57972 [#] , KM 57973 [#]
<i>Pterula echo</i>	DQ494693[§], AY458123[#]
<i>Pterula epiphylla</i>	FJ648342[§]
<i>Pterula harrisonii</i>	FLOR0056398 ^{#§}
<i>Pterula juruensis</i>	BPI295281 [*] , BPI295282 [*] , BPI295283 [*] , FLOR0056381 ^{#§} , FLOR0056390 ^{#§} , FLOR0056396 ^{#§} , BDCR0413[§], BDCR0405^{#§}
<i>Pterula moniliformis</i>	BPI295502 [*] , FLOR0056397 ^{#§} , FJ648332–FJ648336[§]
<i>Pterula nudihorta</i>	AY367602[#]–AY367612[#] AY367627[§]–AY367633[§],
<i>Pterula</i> cf. <i>plumosa</i>	KM167176 [#]
<i>Pterula stipata</i>	BPI333083 [*] , FLOR0056375 ^{#§}
<i>Pterula subulata</i>	KM167186 [#] , KM145950 [#]
<i>Pterula uleana</i>	BPI295287 [*] , BPI295317 [*] , BPI295318 [*]
<i>Pterula uleana</i> var. <i>gracillima</i>	BPI333091 [*]
<i>Pterula velohorta</i>	FLOR42555 [*] , AY367562[#]–AY367601[#], CALD100[§], CALD101[§], CALD102[§], AY367613[§]–AY367626[§] U11905[§], U11905[§], U11890[§]
<i>Pterula velutipes</i>	FJ648343[§]
<i>Pterula verticillata</i>	KM27119 [#]
<i>Pterula</i> sp. 1	FLOR0056383 ^{#§}
<i>Pterula</i> sp. 2	CALD128 [*]
<i>Pterula</i> sp. 3	RB524909 ^{#§}
<i>Pterula</i> sp.	FLOR0056400 [#] , FLOR0056391 ^{#§} , FLOR0056376 ^{#§} , FLOR0056370 ^{#§} , FLOR0056389 ^{#§} , FLOR0056425 ^{#§} , TBS24 [#] , FLOR0056416 ^{#§} , FLOR0056378 ^{#§} , FLOR0056410 ^{#§} , RLC11 [#] , FLOR0056379 ^{#§} , KM153837 [#] , TBS10 [#] , TBS26 [#] , KM52638 [#] , RLC240 [#] ,

	FLOR0056415 ^{#S} , KM153839 [#] , KM153826 [#] , KM77918 [#] , KM64437 [#] , RLC6 [#] , TBS5 [#] , RLC15 [#] , DJM1031 [#] , FLOR0056369 ^{#S} , TBS13 [#] , BZL22 ^{#S} , RLC70 [#] , RLC90 [#] , BLZ40 ^{#S} , KM147896 [#] , RLC89 [#] , FJ648340 ^{#S} , FJ648341 ^{#S} , KM153819 [#] , KM153836 [#] , FLOR0056407 ^{#S} , RLC273 [#] , TBS23_V1 [#] , TBS23_V2 [#] , DQ911591 [#] , FJ648337 ^{#S} , KM141379 [#] , FLOR0056368 ^{#S} , TBS33 [#] , KM135954 [#] , KM137475 [#] , KM141022 [#] , FLOR0056367 ^S , FLOR0056427 ^S , FLOR0056411 ^S , FLOR0056426 ^S , FLOR0056366 ^S , FLOR0056387 ^S , FLOR0056385 ^S , FLOR0056408 ^S , FLOR0056421 ^S , FLOR0056372 ^S , FLOR0056413 ^S , FLOR0056414 ^S , FLOR0056380 ^S , FLOR0056384 ^S , FLOR0056386 ^S , FLOR0056374 ^S , FLOR0056395 ^S , FLOR0056364 ^S , FLOR0056365 ^S , FLOR0056409 ^S , INPA244054 ^S , FLOR0056422 ^S , FLOR0056417 ^S , FLOR0056420 ^S , FLOR0056401 ^S , RB524908 ^S , FLOR0056399, DQ911592 ^S , FLOR0056405 ^S , FLOR0056424 ^S , FJ648330 ^S , FLOR0056418 ^S , FLOR0056371 ^S , AY458121 ^S , FLOR0056388 ^S , FLOR0056382 ^S , FLOR0056392 ^S , TBS1 [#]
<i>Pterulicium xylogenum</i>	KM167222 [#] , FJ648338 ^S , FJ648339 ^S
<i>Radulomyces confluens</i>	KM181613 [#] , AY586704 ^S
<i>Coronicium alboglaucum</i>	AY586650 ^S
<i>Merulicium fusisporum</i>	EU118647 ^S

4 RESULTADOS

Os resultados desta dissertação estão organizados em dois capítulos.

O capítulo 1 aborda os aspectos taxonômicos das espécies coraloides de Pterulaceae que ocorrem no Brasil. O capítulo apresenta uma lista de espécies com ocorrências registradas no país, chaves para identificação destas espécies além de um novo registro de *Pterula* para o Brasil e uma espécie nova para a ciência.

O capítulo 2 desta dissertação apresenta os resultados dos estudos moleculares conduzidos a partir do sequenciamento de espécimes coletados recentemente, obtenção de sequências do GenBank e em colaboração com o Dr. Bryn Dentinger.

4.1 CAPÍTULO 1:

NEW AND NOTEWORTHY SPECIES OF CORALLOID PTERULACEAE (AGARICALES) FROM BRAZIL

A ser submetido para a revista Mycotaxon.

New and noteworthy species of coralloid *Pterulaceae* (*Agaricales*) from Brazil

CAIO AMBROSIO LEAL DUTRA*¹, BRYN T. M. DENTINGER², MATEUS A. RECK¹ & MARIA ALICE NEVES¹

¹Micolab, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC, Brazil

²Royal Botanic Gardens, Kew, Richmond, United Kingdom

*CORRESPONDENCE TO: caioald@gmail.com

ABSTRACT — An updated checklist of the species of *Pterulaceae* from Brazil is presented, as well as identification keys for the genera and species of the family. A new species, *Pterula harrisonii*, one new record from Brazil, *Pterula velohorta*, and one new record from the Neotropical Region, *Deflexula lilaceobrunnea* are presented in addition to 29 taxa previously reported.

KEY WORDS — Clavarioid fungi, Agaricomycetes, Systematics, Clavariaceae

Introduction

In his “Monograph of *Clavaria* and allied genera”, Corner (1950) grouped four coralloid, filiform and dimitic genera into the *Pteruloid* series (*Clavariaceae* Chev.): *Dimorphocystis* Corner, *Deflexula* Corner, *Pterula* Fries, and *Pterulicium* Corner. These genera, along with *Parapterulicium* Corner and *Allantula* Corner, were proposed by Donk (1964) to compose *Pteruloideae* and later, Corner (1970) raised these six genera to *Pterulaceae*.

Recent molecular studies removed *Dimorphocystis* from the family and proposed the addition of four corticioid genera (*Aphanobasidium* Jülich, *Coronicium* J. Erikss. & Ryvar den, *Merulicium* J. Erikss. & Ryvar den, and *Radulomyces* M.P. Christ) (Dentinger & McLaughlin 2006, Matheny et al. 2006, Larsson 2007).

The family is characterized by small basidiomes with coralloid and filiform morphology, simple or branched, from few branches to bushy, erect or deflexed, usually light-colored. The stem can be distinguished from the hymenophore by its color, velutinous surface or sometimes it is little or not differentiated macroscopically. The basidiospores are in general ellipsoid to amygdaliform with a prominent apiculus. The remarkable feature of the family is the dimitic hyphal system, which along with the coralloid-filiform habit, was crucial to gather the taxa into the family (Corner 1970).

Pterulaceae is worldwide distributed (92 spp.), but the majority of the known species are from the Neotropical Region (49 spp.). Brazil is among the countries that harbor the largest number of described species so far, with 26 species (Corner 1950, 1952, 1970).

Through field expeditions, literature survey and revision of herbaria specimens, this study presents a checklist of the species in the family found in Brazil. This work presents an identification key and descriptions of 13

species and one variety. Two new records for Brazil and the proposition of a new species of *Pterula* are also included.

Material & methods

The list of species of Pterulaceae here presented was compiled from recent collections, herbaria exsiccates and literature revision. Macroscopic analysis were conducted following the traditional methods of Largent (1986) and microscopic analysis were adapted from Largent et al. (1977) to pterulaceous fungi, where instead of sectioning the basidiomes with a razor, part of the fungus was ripped with the aid of two very thin needles. The sections were then observed under an optical microscope and mounted on KOH, H₂O, Melzer, Congo red, or phloxine. Thirteen species and one variety were described. Specimens were obtained through field collection or herbaria loans (BPI, MBM and RB). Macro and microscopic illustrations were made based on the pictures taken on the field and on microscopic observations. For the taxa that have been fully described earlier, the references are cited.

The colors codes follow the Soil Color Chart (Munsell 1975).

The identification keys for the Brazilian genera and species were adapted from Corner (1970) and are presented here.

Voucher of the collections are deposited at FLOR and RB. Herbaria acronyms follow Thiers (continuously updated).

Taxonomy

Identification Key to Pterulaceae Genera and Species

Adapted from Corner (1970)

Identification Key to the Genera of Pterulaceae from Brazil

- 1. Gloeocystidia in the hymenium; generative hyphae without clamps. *Parapterulicium*
- 1. Gloeocystidia absent; generative hyphae mostly clamped. 2
 - 2. Basidiomes decumbent, often as swollen segments of slender rhizomorphs. *Allantula*
 - 2. Basidiomes clavarioid, projecting. 3
 - 3. Basidiomes decurved or inverted. *Deflexula*
 - 3. Basidiomes erect. *Pterula*

Identification Key to the species of *Deflexula* from Brazil

- 1. Basidiospores globose or subglobose, smooth. 2
 - 2. Basidiospores globose 10-13µm. *D. lilaceobrunnea*
 - 2. Basidiospores subglobose 11-12.5 x 10-11.5µm. *D. argentina*
- 1. Basidiospores ellipsoid, often slightly sulcate-angled when dried. 3
 - 3. Basidiomes branched. 4

- 4. Main axes not distinctly horizontal, deflexed as the branches.
..... *D. subsimplex* 5
- 4. Main axes horizontal branching unilaterally to the lower side. 5
 - 5. Stem 0.5 mm thick; basidiospores 10-15 x 5.5-7.5µm, thin-walled, not angled. *D. secundiramea*
 - 5. Stem 1 mm thick; Basidiospores 12-15 x 7-9µm, distinctly thick-walled and angled. *D. sprucei*
- 3. Basidiomes simple. 6
 - 6. Basidiomes up to 10mm long, basidiospores 10-14 x 8-11µm, the wall distinctly thickened, angled with 6-9 sides. *D. sulcispora*
 - 6. Basidiomes up to 28mm long, basidiospores 10-15 x 6-8µm, slightly thick-walled, angled with 4-6 sides. *D. subsimplex*

Identification Key to the species of *Parapterulicium* from Brazil

- 1. Hymenial dichophyses present; skeletal walls not swelling in KOH.
..... *P. subarbusculum*
- 1. Hymenial dichophyses absent; skeletal walls swelling in KOH. *P. octopodites*

Identification Key to the species of *Pterula* from Brazil

- 1. Basidiomes branched, bushy, mostly in humus or on the ground; hymenium usually thickening; mostly without cystidia. Group A
- 1. Basidiomes often simple, some branched, not bushy, mostly in deade leaves, twigs or branches; hymenium rarely thickening; cystidia often present. 2
 - 2. Stem with brown sclerotoid surface or with a sclerotium. Group B
 - 2. Stem without sclerotoid surface or sclerotium. *P. gordius* (Group C)

Group A

- 1. Basidiomes with apical, multifid or dichotomous, branching. 2
 - 2. Basidiomes with swollen articulate sterile joints among the fertile filiform branches. *P. moniliformis*
 - 2. Basidiomes without such characteristics. 3
 - 3. Basidiomes branching dichotomous throughout. *P. plumosoides*
- 3 Basidiomes branching multifid. 4
 - 4. Basidiomes branching strongly flattened (axils 2-5mm wide).
.....*P. complanata*
 - 4. Bbasidiomes branches not conspicuously flattened (axils confluent). . 5
 - 5. Basidiomes up to 3 cm; basidia 18-23 x 4-6µm; basidiospores 3-3.5µm wide. *P. harrisoni*
 - 5. Basidiomes up to 6 cm; basidia 35-45 x 7.5-9µm; basidiospores 3.5-4.7µm wide. *P. subulata*
- 1. Basidiomes monopodial with adventitious branching or, at most, the lower branches multifid or dichotomous. 6
 - 6. Basidiospores more than 7µm long. 7
 - 7. Basidiospores 9-11 x 4.7-6µm, slightly thick-walled. *P. palmicola*

- 7. Basidiospores 7-10 x 3-5µm, thin-walled. 8
 - 8. Basidiomes 2-5 cm, multifid and bushy; stem up to 0.3 mm thick. *P. capillaris*
 - 8. Basidiomes up to 4.5 cm, the axis and few main branches monopodial, branchlets mostly simple; stem more than 0.3mm thick. *P. stipata*
- 6. Basidiospores less than 7µm long. 9
 - 9. Basidiomes up to 2 cm, lignicolous; stem brown, villous, strigose or fibrillose; basidiospores 3.5-4.5µm wide. 10
 - 10. Basidiomes rather stout; stem 0.7-1.5 mm thick; brownish with pinkish branches. *P. juruensis*
 - 10. Basidiomes slender; stem 0.3-0.5 mm thick; white, brownish downwards. *P. taxiformis*
(Stem 0.1-0.15 mm thick. *P. taxiformis* var. *gracilis*)
 - 9. Basidiomes up to 6 cm, humicolous; stem pale ochraceous, glabrous; basidiospores 2.5-3.5µm wide. *P. uleana*
(Basidiomes up to 1.5 cm high, humicolous; stem up to 0.3mm thick, glabrous, basidiospores 6-7 x 3-3.5µm. ... *P. uleana* var. *gracillima*)

Group B

- 1. Caulocystidia absent. *P. tenuissima*
- 1. Caulocystidia present. 2
 - 2. Hymenial cystidia thick-walled, encrusted. *P. cystidiata*
- 2. Hymenial cystidia absent or thin-walled and smooth. 3
 - 3. Caulocystidia up to 50µm long (occasionally up to 80µm at the base of the stem). 4
 - 4. Hymenial cystidia abundant; basidiospores with walls slightly thickened. *P. epiphylloides*
 - 4. Hymenial cystidia absent; basidiospores thin-walled. *P. typhuloides*
- 3. Caulocystidia 60-100µm or longer (120-160µm). 5
 - 5. Basidiomes generally branched, monopodial; basidiospores 7-8.5 x 3-4µm. *P. fluminensis*
 - 5. Basidiomes simple or sparingly branched; basidiospores more than 10µm long. 6
 - 6. Basidiospores 3.5-4.5µm wide, thin-walled; caulocystidia with long filiform appendage. *P. longispora*
 - 6. Basidiospores 4-6µm wide, slightly thick-walled; caulocystidia conical acute. *P. brunneosetosa*

Allantula Corner, *Ann. Bot.*, 16: 270 (1952)

TYPE: *Allantula diffusa* Corner, *Ann. Bot.*, 16: 270 (1952)

DESCRIPTION: Corner, *Ann. Bot.*, 16: 270 (1952).

Allantula diffusa Corner, *Ann. Bot.*, 16: 270 (1952)

DESCRIPTION: Corner (1952a).

DISTRIBUTION IN BRAZIL: Rio de Janeiro, Rio de Janeiro (Corner 1952a).

REMARKS: This species was reported only once by Corner (1952a). During this two field trips to Rio de Janeiro were conducted (November 2011 and November 2014) in attempt to recollect this species, but both failed. This is a key species for molecular analysis of the family and its collection would be of great value for these studies.

Deflexula Corner, *Ann. Bot. Mem.* 1: 394, 695 (1950)

TYPE: *Deflexula fascicularis* (Bres. & Pat.) Corner, *Ann. Bot. Mem.* 1: 395, 695 (1950)

DESCRIPTIONS: Corner (1950, 1952a).

Deflexula argentina (Speg.) Corner, *Ann. Bot.*, 16: 276 (1952)

≡ *Mucronella argentina* Speg. *Anal. Mus. nac. Hist. nat. B. Aires* 6: 178 (1898)

DESCRIPTION: Corner (1952a as *D. argentina* and *D. lilaceobrunnea* var. *elongate*, 1970).

DISTRIBUTION IN BRAZIL: Rio de Janeiro, Rio de Janeiro (Corner 1952a, as *D. lilaceobrunnea* var. *elongata*).

REMARKS: According to Corner (1952a, 1970) this species is very near to *D. lilaceobrunnea* but with larger basidiomes and the lack of pink/violet color.

Deflexula lilaceobrunnea Corner, *Ann. Bot. Mem.* 1: 695 (1950)

Fig. 1A, 6A

DESCRIPTION: Corner (1950).

BASIDIOMES hydroid up to 0.3 x 3.5mm; white (5Y 8/1), pink (5YR 8/4 to 7/3) or brownish yellow (10YR 6/8) tapering from base to apex; solitary to densely gregarious; simple, often branched from the base. On dead branches. HYPHAL SYSTEM dimitic; skeletal hyphae 3-5 x 300µm or longer hyaline or very light brown, thick walled (up to 2µ); generative hyphae up to 200µm, hyaline, thin walled, with clamp-connections. Some hyphal endings with irregular shapes. Crystals present in the trama and subhymenium. BASIDIA 34-50 x 15-18µm, 4-sterigmata up to 9µm, clavate,

with clamps on the base. BASIDIOLES 23-50 x 9-12µm, subcylindric. CYSTIDIA absent. BASIDIOSPORES 10-13µm, globose, hyaline, slightly thick walled (up to 0.8µm); with cloudy vacuolar contents.

SPECIMENS EXAMINED: BRAZIL: Rio de Janeiro, Teresopolis, Parque Nacional da Serra dos Órgãos, trilha Pedra dos Sinos, 7 Dec 2012, M.A. Neves 961 (RB525019); Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Parque Nacional da Tijuca, Corcovado, Subida para o Cristo, 24 Nov 2014, C.A. Leal-Dutra 113/116, (FLOR0056455, CALD116).

DISTRIBUTION IN BRAZIL: Rio de Janeiro, Teresopolis; Rio de Janeiro, Rio de Janeiro (in this study).

REMARKS: The first collection analyzed was entirely white resembling a smaller basidiome of *D. lilaceobrunnea* var. *elongata*, but this variety was transferred by Corner (1970) to *D. argentina*. *Deflexula lilaceobrunnea* is only reported to Singapore and Sumatra. This is the first record of *D. lilaceobrunnea* from the Neotropical Region.

Deflexula secundiramea (Speg.) Corner, *Beih. Nova Hedwigia* 33: 199 (1970) **Fig. 1B, 6B**

≡ *Pterula secundiramea* Speg., *Fungi Puiggariani*. Pugillius I: 88 (1889).

DESCRIPTIONS: Corner (1950, 1952b as *Pterula secundiramea*, 1970 as *P. secundiramea*).

BASIDIOMES pteruloid up to 3.4 cm high, solitary or caespitose, usually branching to one side only, very pale brown (10YR 7/4) to pale yellow (2.5Y 8/4). BRANCHES usually simple, up to 1.2 cm, curved, slightly positively geotropic, rarely ramified or verticillate. STEM 0.2-0.4 x 2-8 mm, from dark yellowish brown (10YR 3/4) to brown (7.5YR 4/4). On dead dicotyledons branches or bamboo. HYPHAL SYSTEM dimitic; skeletal hyphae pale ochraceous, 2-5 µm wide, thickened walls up to 1.5 µm; generative hyphae hyaline, 2-5 µm wide, thin-walled, clamped. BASIDIA 30-37 x 9-11 µm, clavate, 4-sterigmata. CYSTIDIA absent. BASIDIOSPORES 9-11 x 5-6.5 µm, hyaline, smooth, amygdaliform, thin-walled, apiculus up to 1 µm.

SPECIMENS EXAMINED: BRAZIL: Rio Grande do Sul, São Leopoldo, 1929, J. Rick (BPI295301); Santa Catarina, Santo Amaro da Imperatriz, Hotel Caldas da Imperatriz, trilha da cachoeira, 16 Nov 2013, C.A. Leal-Dutra (FLOR0056373); Santa Catarina, Alfredo Wagner, RPPN Rio das Furnas, 9 Jan 2014, A. Gerlach (FLOR0056419).

DISTRIBUTION IN BRAZIL: São Paulo, Apiaí (Spegazzini 1883, Type); Rio Grande do Sul, São Leopoldo (Corner 1970); Santa Catarina, Santo Amaro da Imperatriz; Santa Catarina, Alfredo Wagner (in this study).

REMARKS: The description of *Clavaria secundiramea* Lév. fits *P. secundiramea*, but Corner (1950) and Lloyd (1919) were not sure if they are the same species, not even Spegazzini was able to say if this species is the same of Levéille. Here we followed Corner (1950, 1952b, 1970). This is the first record of *D. secundiramea* from the State of Santa Catarina.

Deflexula sprucei (Mont.) Maas Geest., *Persoonia* 3(2): 179 (1964)

≡ *Hydnum sprucei* Mont., *Syll. gen. sp. crypt.* (Paris): 173 (1856)

= *Pterula pennata* Henn., *Hedwigia* 43(3): 174 (1904)

≡ *Pterula sprucei* (Mont.) Lloyd, *Mycol. Writ.* 5: 865 (1919)

= *Deflexula pennata* (Henn.) Corner, *Ann. Bot.*, 16: 278 (1952)

= *Pterula subplumosa* Henn., *Hedwigia* 36(4): 197 (1897)

DESCRIPTION: Corner (1952a as *D. pennata*, 1970)

DISTRIBUTION IN BRAZIL: Amazonas, São Gabriel da Cachoeira (Montagne 1856, Type); Acre, Rio Juruá, Juruá-Mirim (Hennings 1904, as *P. pennata*), Mato Grosso, Nova Xavantina (Corner 1970).

REMARKS: According to the description of Hennings (1904) the type collection of *P. pennata* was collected at the State of Amazonas in 1901. However, due to the creation of the State of Acre in 1903, the locality now needs to be updated. The locality provided by Montagne (1856) suggests the border city of São Gabriel da Cachoeira, Acre.

Deflexula subsimplex (Henn.) Corner, *Ann. Bot.*, 16: 279 (1952)

Fig. 1C, 6C

≡ *Pterula subsimplex* Henn., *Hedwigia* 36(4): 197 (1897)

= *Pterula nivea* Pat., *Bull. Soc. mycol. Fr.* 18(2): 174 (1902)

= *Mucronella pacifica* Kobayashi, *Bot. Mag.*, Tokyo 53: 160 (1939)

= *Deflexula nivea* (Pat.) Corner, *Ann. Bot. Mem.* 1: 398 (1950)

= *Deflexula pacifica* (Kobayashi) Corner, *Ann. Bot. Mem.* 1: 399 (1950)

DESCRIPTION: Corner (1950 as *D. pacifica* and *D. nivea*, 1952a, 1970).

BASIDIOMES hydroid up to 3.5 cm, fasciculate, sometimes caespitose, deflexed, robust at the base, very pale brown (10YR 7/4), drying yellow (10YR 7/6). STEM 3 x 0.7 mm, almost horizontal, with several deflexed branches and very small secondary branchlets, tapering and with acute ends. On decayed dicotyledons branch. HYPHAL SYSTEM dimitic; skeletal hyphae 3-8µm wide, thick-walled (up to 2µ), with some swelling in the trama; generative hyphae up to 4(5)µm wide, thin-walled, clamped. BASIDIA not observed. CYSTIDIA papillate-capitate to subventricose thin-walled.

BASIDIOSPORES 12-14 x 6-8.5µm, ellipsoid to pruniform, 4-6 angled with slight longitudinal ridges, thick-walled, the apiculus up to 1µm long.

SPECIMENS EXAMINED: BRAZIL: Paraná, Colombo, 17 Apr 2000, Meijer A.A.R. & M.A.L.A. Amazonas (MBM389478); Rio Grande do Sul, São Leopoldo, 1911, J. Rick (BPI295501); Santa Catarina, Florianópolis, Costão do Santinho, trilha do Morro das Aranhas, 27 Jan 2014, C.A. Leal-Dutra (FLOR0056393, FLOR0056394); Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Parque Nacional da Tijuca, pr. Casa do Pesquisador, 25 Nov 2014, C.A. Leal-Dutra (CALD126).

DISTRIBUTION IN BRAZIL: Santa Catarina, Blumenau (Hennings 1897, Type, as *P. subsimplex*), Rio Grande do Sul, São Leopoldo (Corner 1952a), Mato Grosso, Nova Xavantina (Corner 1970); Paraná, Colombo (Meijer 2006); Santa Catarina, Florianópolis; Rio de Janeiro, Rio de Janeiro (in this study).

REMARKS: According to Corner (1970) this species is near to *D. nana* differentiating only by the narrower skeletal hyphae and thin-walled basidiospores of *D. nana*. More collections are necessary to establish if they are conspecific. The collection 295501 from BPI is much more caespitose than the others, but the microstructures look alike. This is the first record of *D. subsimplex* from the States of Santa Catarina and Rio de Janeiro.

Deflexula subsimplex* var. *multifida Corner, *Ann. Bot.*, 16: 282 (1952)

DESCRIPTION: Corner (1952a, 1970).

BASIDIOMES hydroid up to 10 x 0.15 mm, the base very fasciculate and ascendent, deflexed towards the apex, often simple, sometimes with several very slender branches up to 80µm wide resembling mold mycelium, drying yellow (10YR 7/6). STEM 2 x 0.15 mm. On decayed trunk of *Euterpe edulis*. HYPHAL SYSTEM dimitic; skeletal hyphae up to 5µm wide, thick-walled (up to 2µ), slightly ochraceous, slightly dextrinoid; generative hyphae up to 4(5)µm wide, thin-walled, clamped. BASIDIA 30 x 4µm 4-sterigmata. Collapsed cystidia-like structures observed. BASIDIOSPORES 11.4-13.2 x 6-7.6µm, ellipsoid to pruniform, 4-5-6 angled with slight longitudinal ridges, slightly thick-walled, the apiculus up to 1µm long.

SPECIMEN EXAMINED: BRAZIL: Paraná, Paranaguá, 22 Jun 1993, A.A.R. Meijer (MBM389462).

DISTRIBUTION IN BRAZIL: São Paulo, São Paulo (Corner 1970, Type); Paraná, Paranaguá (in this study).

REMARKS: This variety has smaller basidiomes and more branchings than *D. subsimplex* var. *subsimplex*. It could be a polymorphism of the species.

Deflexula sulcispora Corner, *Ann. Bot.*, 16: 283 (1952)

Fig. 2A

DESCRIPTION: Corner (1952a).

BASIDIOMES hydroid up to 8 x 0.3 mm, very branched at the base, deflexed, simple at the apex, drying yellow (10YR 7/6). STEM 1 x 0.05 mm. On dead fallen wood. HYPHAL SYSTEM dimitic; skeletal hyphae up to 5µm wide, thick-walled (up to 2µ), slightly ochraceous; generative hyphae up to 3.5µm wide, thin-walled, clamped. BASIDIA not observed because the old conditions of the material. BASIDIOSPORES 10.5-13.5 x 8.5-11µm, subglobose to pruniform, angled with 6-9 sides distinctly sulcate longitudinally (on SEM analysis it is possible to observe deep grooves on the surface), thick-walled with a prominent thickening at the angles (up to 1.3µ), the apiculus up to 1µm long.

SPECIMEN EXAMINED: BRAZIL: Rio Grande do Sul, São Leopoldo, J. Rick (TYPE = BPI333273).

DISTRIBUTION IN BRAZIL: Rio Grande do Sul, São Leopoldo, TYPE; Bahia; Rio de Janeiro, Niterói (Corner 1952a)

REMARKS: This species is very remarkable by the basidiospores with deep grooves on the wall.

Parapterulicium Corner, *Ann. Bot.*, 16: 285 (1952)

TYPE: *Parapterulicium subarbusculum* Corner, *Ann. Bot.*, 16: 288 (1952)

DESCRIPTION: Corner (1952a).

Parapterulicium octopodites Corner, *Ann. Bot.*, 16: 286 (1952)

Fig. 2B, 6D

DESCRIPTION: Corner (1952a).

BASIDIOMES pteruloid to corticioid up to 5 cm high scarce to profusely branched, basidiome completely white (2.5Y 8/2) to pale yellow (2.5 8/4), developing a corticioid patch on the base up to 5 cm wide Stem almost indistinct, up to 0.5 mm wide, when growing out of the the corticioid patch, attached by a mycelial disk 1.5 mm wide. On dead twigs and leaves of

dicotyledons. HYPHAL SYSTEM dimitic; skeletal hyphae 2-6 μ m (up to 10 μ m in KOH) wide, dextrinoid, walls up to 1.5 μ m, strongly swelling in KOH (up to 4.5 μ m), pouring out of the hyphae when broken. In the hymenium the endings of the skeletal hyphae presents rows of short protuberances 2-10 x 1.5-2.5 μ m; generative hyphae 2-5 μ m wide thin-walled, without clamps. GLOEOCYSTIDIA up to 80 x 8-14 μ m, clavate to lanceolate, thin-walled, with dense multiguttulate or granular contents abundant on all parts of the basidiome even on the corticioid patch. HYMENIAL DICOPHYSES absent. BASIDIOSPORES AND BASIDIA not observed.

SPECIMENS EXAMINED: BRAZIL: Rio Grande do Sul, J. Rick (BPI333063); Brazil, São Paulo, Apiaí, Parque Estadual Turístico do Alto Ribeira, 15 Dez 2014, M.A. Reck 1069/14 (FLOR0056449); Santa Catarina, Florianópolis, UCAD, 9 Jan 2015, G. Flores 14 (FLOR0056460).

DISTRIBUTION IN BRAZIL: Rio Grande do Sul, São Leopoldo (Corner 1952a, Type); São Paulo, Apiaí; Santa Catarina, Florianópolis (in this study).

REMARKS: Corner (1952) described this species from a sterile collection. The collections analyzed in this study were also sterile. They were identified mainly by the dimitic hyphal system, the skeletal hyphae with protuberances at the end, and the gloeocystidia. This is the first record of *P. octopodites* from the States of Santa Catarina and São Paulo.

***Parapterulicium subarbusculum* Corner, Ann. Bot., 16: 288 (1952) Fig. 2C, 6E**

DESCRIPTION: Corner (1952a).

BASIDIOMES pteruloid up to 35 mm high, branched, erect, monoaxial with adventitious branches, yellow (10YR 8/6), solitary or gregarious. STEM up to 13 x 0.3-0.7 mm, glabrous, concolor with the rest of the basidiome, attached to a small mycelial disc up to 3 mm wide. BRANCHES up to 1.3 x 0.2 mm, tapering upwards, rarely with branchlets. On dead twigs, petioles, leaves or seeds in the forest. HYPHAL SYSTEM dimitic; skeletal hyphae 2-7 μ m wide, thick-walled (up to 1.3 μ m), rarely branched; generative hyphae up to 7 μ m wide, thin-walled, without clamps. CORTICIOID PATCH in the analyzed material not well developed, presenting abundant dichophyses. HYMENIAL DICOPHYSES up to 30 μ m, thick-walled stalk, 3-6 times dichotomous, filiform ending, tips less than 0.5 μ m, abundant in the hymenium. BASIDIA not observed. GLOEOCYSTIDIA up to 65 μ m, clavate to lanceolate/subulate. BASIDIOSPORES 13.4-16.8 x 3-3.5 μ m, hyaline, smooth, very elongate, subfusoid, apex obtuse, base acute with small apiculus.

SPECIMENS EXAMINED: BRAZIL: Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Parque Nacional da Tijuca, pr. Casa do Pesquisador, 24-25 Nov 2014, C.A. Leal Dutra 108/109/117/118/119/120/121/122 (CALD108, CALD109, CALD117, CALD118, FLOR0056456, FLOR0056457, FLOR0056458, FLOR0056459).

DISTRIBUTION IN BRAZIL: Rio de Janeiro, Rio de Janeiro (Corner 1952a, Type)

REMARKS: This species is very characteristic for its mycelial disc at the base of the stem and the corticioid patch. Among the Brazilian Pterulaceae it is distinct for the presence of dichophyses.

Pterula Fr., *Systema mycologicum* I, p. 464 (1821)

=*Penicillaria* Chevall., *Fl. gén. env.* Paris (Paris) 1: 111 (1826)

=*Phaeopterula* (Henn.) Sacc. & D. Sacc., *Syll. fung.* (Abellini) 17: 201 (1905)

=*Pterula* subgen. *Phaeopterula* Henn., in Warburg, *Monsumia* 1: 9 (1899) [1900]

TYPE: *Pterula plumosa* (Schwein.) Fr., *Syst. orb. veg.* 1: 531 (1825)

DESCRIPTIONS: Corner (1950, 1952b, 1970).

Pterula brunneosetosa Corner, *Ann. Bot.*, 16: 566 (1952)

Fig. 3A

DESCRIPTIONS: Corner (1952b, 1970).

BASIDIOMES pteruloid up to 40 x 0.3 mm, simple, scattered or solitary, coloration seems to be altered by the herbaria storage. STEM up to 10 x 0.3 mm, hispid darker than the rest of basidiome, surface. On dead leaves of dicotyledons. HYPHAL SYSTEM dimitic; skeletal hyphae 2-7 μ m wide, thick-walled (up to 1.3 μ m); generative hyphae up to 6 μ m wide, hyaline, thin-walled, clamped. BASIDIA not observed. CAULOCYSTIDIA up to 145 x 11 μ m, subulate, with thick and brownish walls. CYSTIDIA absent. BASIDIOSPORES 11-14 x 3.5-4.5 μ m, hyaline, smooth, fusoid to subamygdaliform, slightly thick-walled, with a slightly prominent apiculus (0.7 μ m). STEM SURFACE sclerotoid.

SPECIMEN EXAMINED: BRAZIL: Paraná, Antonina, 14 May 2003, A.A.R Meijer 4196 (MBM389452).

DISTRIBUTION IN BRAZIL: Rio de Janeiro, Niterói, TYPE; Rio de Janeiro, Rio de Janeiro (Corner 1952b); Paraná, Antonina (Meijer 2006).

REMARKS: The structure of the stem surface resembles the surface of a sclerotium and it is illustrated and described by Corner (1950) in the description of *P. typhuloides*. It is also illustrated in Fig.3Aa of this work. This is a character to distinguish *Pterula* group B from the species on the other groups.

Pterula capillaris (Lév.) Sacc., *Syll. fung.* (Abellini) 6: 742 (1888)
≡*Merisma capillare* Lév., *Annls Sci. Nat., Bot.*, sér.3 2: 208 (1844)
=*Pterula arbuscula* Bres., *Hedwigia* 35(5): 291 (1896)

DESCRIPTIONS: Corner (1950, 1952, 1970).

DISTRIBUTION IN BRAZIL: Santa Catarina, Blumenau (Bresadola 1896, as *Pterula arbuscula*).

Pterula complanata Corner, *Ann. Bot.*, 16: 566 (1952)

DESCRIPTION: Corner (1952b).

DISTRIBUTION IN BRAZIL: Maranhão, near São Luís (Corner, 1952b, Type)

Pterula cystidiata Corner, *Ann. Bot.*, 16: 567 (1952)

DESCRIPTION: Corner (1952b).

DISTRIBUTION IN BRAZIL: Rio de Janeiro, Niterói (Corner 1952b, Type).

REMARKS: *Pterula epiphylla* is only reported from Singapore, thus, this is the first record for this species from the Neotropical Region.

Pterula epiphylloides Corner, *Ann. Bot.*, 16: 567 (1952)

DESCRIPTIONS: Corner (1952b, 1970).

DISTRIBUTION IN BRAZIL: São Paulo, Campinas (Corner 1970)

Pterula fluminensis Corner, *Ann. Bot.*, 16: 567 (1952)

DESCRIPTIONS: Corner (1952b, 1970).

DISTRIBUTION IN BRAZIL: Rio de Janeiro, Niterói, TYPE; Rio Grande do Sul (Corner 1952b).

Pterula gordius (Speg.) Corner, *Ann. Bot. Mem.* 1: 513 (1950)

≡ *Clavaria gordius* Speg., *Anal. Soc. cient. argent.* 17(2): 83 (1884)

= *Clavaria subulata* Berk. & Cooke, *J. Linn. Soc., Bot.* 15: 391 (1876)

DESCRIPTIONS: Corner (1950, 1970).

DISTRIBUTION IN BRAZIL: Rio Juruá (State of Amazonas or Acre, Northern Brazil) (Berkeley & Cooke 1876, as *Clavaria subulata*); Paraná (Meijer 2006).

REMARKS: Spegazzini type of *C. gordius* was collected in Guarapí, Paraguay, not in Brazil as Corner (1950) annotated. The Brazilian record of this species is given by Berkeley & Cook (1876) as *Clavaria subulata*, but the authors only cite the river around where it was collected, it could be in the States of Amazonas or Acre.

Pterula harrisonii Leal-Dutra C. A. **sp. nov.**

MYCOBANK 812554

Fig. 3C, 6F

Differs from other bushy *Pterula* spp. by the complex coloration of the basidiomes, small basidia and basidiospores and its habitat in humous and sandy soil.

TYPE: BRAZIL: Paraíba, João Pessoa, Universidade Federal da Paraíba, near the biotery, secondary Atlantic Rainforest, on humous and Sandy soil, 15 July 2010, M.A. Neves (HOLOTYPE = FLOR0056398).

ETYMOLOGY: The species is named after the beetle George Harrison, in honor of the 13th anniversary of his death.

BASIDIOMES pteruloid up to 3 cm tall, very bushy, gregarious, stem white (5YR 8/1), branches pinkish white (5YR 8/2) to very pale brown (10YR 8/4) with some tips lighter (10YR 8/4) and some darkening toward the very tip (10YR 3/6), smelling strongly fungic, multifid from the base, branching at apex 2 to 5 times; drying: horny, stem very pale brown (10YR 8/4), branches reddish gray (10R 6/1) to pale red (10R 6/2), and tips brownish yellow (10YR 6/8). BRANCHES up to 0.2 mm with very acute tips. STEM up to 1 mm wide, glabrous, resembling several stems anastomosed, arising from spreading mycelia on the ground. On humous and sandy soil. HYPHAL SYSTEM dimitic; skeletal hyphae pale ochraceous, 2-5 μm wide, slightly thick-walled (sometimes 1 μm); generative hyphae hyaline, 1.5-5 μm wide, thin-walled, with abundant and large clamps. BASIDIA 18-23 x 4-6 μm , clavate, 4-sterigmata, present all over the hymenium. CYSTIDIA absent. CAULOCYSTIDIA absent. BASIDIOSPORES 5-6.5 x 3-3.5 μm white, smooth, ellipsoid to pip-shaped, thin-walled, apiculus up to 0.7 μm .

SPECIMEN EXAMINED: BRAZIL: Paraíba, João Pessoa, Universidade Federal da Paraíba, near the biotery, secondary Atlantic Rainforest, on humous and sandy soil, 15 July 2010, M.A. Neves (HOLOTYPE = FLOR0056398).

DISTRIBUTION IN BRAZIL: Paraíba, João Pessoa (in this study).

REMARKS: *Pterula harrisonii* differs from *P. brunneola* by the absence of clamps in *P. brunneola*. It can also be compared to *P. multifida* and to *P. plumosa*, however both have larger basidia and basidiomes.

Pterula juruensis (Henn.) Corner, *Ann. Bot. Mem.* 1: 518 (1950)

Fig. 4A, 6G

≡ *Dendrocladium juruense* (Henn.) Lloyd, *Mycol. Writ.* 5: 870 (1919)

≡ *Phaeopterula juruensis* Henn., *Hedwigia* 43(3): 175 (1904)

DESCRIPTION: Corner (1952b).

BASIDIOMES pteruloid up to 2 cm tall, solitary or gregarious, bushy, branching 2-3 axis. Branches pinkish white (7.5YR 8/2) to very pale brown (10YR 8/4) at the apex, yellowish red (5YR 5/6) at the base. STEM up to 5 X 1 mm, villous-tomentose, red (2.5YR 4/6) to dark red (2.5YR 3/6). Very slender and numerous rhizomorphs strong brown (7.5YR 5/8) to dark red (2.5YR 3/6). On dead twigs. HYPHAL SYSTEM dimitic; skeletal hyphae 3-6 µm wide, wall 1µm, pale brown; generative hyphae hyaline, 2-5µm wide, slightly thick-walled, with clamp-connections. Some hyphal ends with clavate to subcapitate terminations. BASIDIA not observed. CYSTIDIA absent. CAULOCISTIDIA up to 100µm. BASIDIOSPORES 5.1-6.5 X 3.2-4.1µm, white, smooth, ellipsoid, with thickened wall and prominent apiculus up to 1µm. STEM SURFACE not sclerotoid.

SPECIMENS EXAMINED: BRAZIL: Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Parque Nacional da Tijuca, Corcovado, 20/25 Nov 4 Dec 1948, E.J.H. Corner (BPI295281, BPI295282, BPI295283); Minas Gerais, Virginópolis, Ribeirão do Canga, Fazenda do Canga, 20 Dec 2013, C.A. Leal-Dutra 74 (FLOR0056381); Santa Catarina, Florianópolis, Costão do Santinho, trilha do Morro das Aranhas, 20 Dec 2013, C.A. Leal-Dutra 91, 97 (FLOR0056390, FLOR0056396).

DISTRIBUTION IN BRAZIL: Acre, Rio Juruá, Juruá-Mirim (Hennings 1904, TYPE); Rio de Janeiro, Niterói; Rio de Janeiro, Rio de Janeiro (Corner 1952b); Minas Gerais, Virginópolis; Santa Catarina, Florianópolis (in this study).

REMARKS: The type locality here is also changed to the State of Acre due to the change explained under *D. sprucei*. This is the first record of *P. juruensis* from the States of Santa Catarina and Minas Gerais.

Pterula longispora Corner, *Ann. Bot.*, 16: 567 (1952)

DESCRIPTION: Corner (1952b).

DISTRIBUTION IN BRAZIL: Rio de Janeiro, Rio de Janeiro (Corner 1952b).

Pterula moniliformis (Henn.) Corner, *Ann. Bot.*, 16: 546 (1952)

Fig. 4B

≡ *Lachnocladium moniliforme* Henn., *Hedwigia* 43(3): 198 (1904)

= *Telephora clavarioides* Torrend, *Brotéria*, sér. bot. 12: 61 (1914)

DESCRIPTIONS: Corner (1952b, 1970).

BASIDIOMES pteruloid up to 7.5 cm high, dividing into two parts: the fertile regular basidiomes with branches 0.1 x 0.2 mm wide, drying flattened, dark grayish brown (2.5Y 4/2) to dark olive gray (5Y 3/2). STEM up to 15 x 2 mm, drying yellowish brown (10YR 5/6) to very dark brown (10YR 2/2); and the sterile gouty basidiomes, up to 4 cm high, yellow (10YR 7/6 to 7/8), borne on sterile branches from the base of the tuft, not bearing *Pterula* basidiomes. On sandy soil. HYPHAL SYSTEM dimitic; skeletal hyphae 4-6 µm wide, wall 1.5 µm, pale brown; generative hyphae hyaline, 2-5 µm wide, thin walled, with abundant clamp-connections, sometimes resembling several clamps in the same septa. BASIDIA not observed. CYSTIDIA 30-35 x 5-8 µm, subventricose, thin-walled. CAULOCYSTIDIA absent. BASIDIOSPORES 6-7.5 x 3.5-4.5µm, ellipsoid to subamygdaliform, apiculus small.

SPECIMENS EXAMINED: BRAZIL: pr. Bahia, Type of *Telephora clavarioides*, Dec 1912, J. Tavares (BPI295502); Paraíba, João Pessoa, UFPB, behind the library, 4 Jun 2009, M.A. Neves 435 (FLOR0056397).

DISTRIBUTION IN BRAZIL: São Paulo, Serra da Cantareira (Hennings 1904, TYPE); Bahia (Torrend 1914); Pernambuco, Recife (Corner 1970); Paraíba, João Pessoa (in this study).

REMARKS: This species draws attention for its sterile gouty basidiomes. Dentinger (2009) showed that this species is phylogenetically placed near to the *Apterostigma* ants' cultivar (*P. nudihorta* and *P. velohorta*) and that could be a clue to unveil the coevolution history of this mutualism. Is very common the generative hyphae break in the septa and leave the clamps unbroken, and sometimes branching from the clamps. This is the first record of *P. moniliformis* from the State of Paraíba.

Pterula palmicola Corner, *Ann. Bot.*, 16: 568 (1952)

DESCRIPTIONS: Corner (1952b, 1970).

DISTRIBUTION IN BRAZIL: Santa Catarina, Blumenau (Corner 1952b, TYPE); Paraná, Antonina (Meijer 2006).

Pterula plumosoides Corner, *Ann. Bot.*, 16: 568 (1952)

DESCRIPTIONS: Corner (1952b, 1970).

DISTRIBUTION IN BRAZIL: Rio de Janeiro, Niterói (Corner 1952b, TYPE); Paraná, Antonina (Meijer 2006).

Pterula stipata Corner, *Ann. Bot.*, 16: 568 (1952)

Fig. 4C, 6H

DESCRIPTION: Corner (1952b).

BASIDIOMES pteruloid up to 2.4 cm tall, solitary or gregarious, branched, pale cream. STEM up to 6.5 x 0.6 mm, distinct, rusty brown, glabrous, joined by a thin mycelial disk 1-2 mm; adventitious branches usually simple, sub-opposite. On small dead branches. HYPHAL SYSTEM dimitic; skeletal hyphae pale ochraceous, 2-4µm wide, thickened walls up to 1µm; generative hyphae hyaline, 2-3µm wide, thin-walled, clamped, the superficial hyphae of the stem with agglutinated walls but not sclerotoid, appearing pseudoparenchymatous. BASIDIA 23 x 7µm 4-sterigmata. CYSTIDIA absent. CAULOCYSTIDIA absent. BASIDIOSPORES 7.4-8.7 x 3.1-3.7µm hyaline, smooth, pip-shaped to amygdaliform, thin walled, sometimes 1-guttulate, with prominent apiculus up to 1µm.

SPECIMENS EXAMINED: BRAZIL: Rio Grande do Sul, São Leopoldo, J. Rick (TYPE = BPI333083); Minas Gerais, Virginópolis, Ribeirão do Canga, Fazenda do Canga, 20 Dec 2013, C.A. Leal-Dutra 69 (FLOR0056375).

DISTRIBUTION IN BRAZIL: Rio Grande do Sul, São Leopoldo (Corner 1952b); Minas Gerais, Virginópolis (in this study).

REMARKS: According to Corner (1952b) this species is near *P. capillaris* but it has a different branching pattern. This is the first record of *P. stipata* from the State of Minas Gerais.

Pterula subulata Fr., *Syst. orb. veg.* (Lundae) 1: 90 (1825)

=*Merisma subulatum* (Fr.) Lév., *Annls Sci. Nat., Bot.*, sér. 3 5: 158 (1846)

DESCRIPTION: Corner (1952b).

DISTRIBUTION IN BRAZIL: Rio de Janeiro, Santa Maria Madalena, Macuco do Imbé (Corner 1970).

REMARKS: The Brazilian collection is reported by Corner (1970) that mentions the specimen may be *P. moniliformis*, perhaps because the resemblance of the fertile basidiomes of *P. moniliformis* with *P. subulata*.

Pterula taxiformis Mont., *Syll. gen. sp. crypt.* (Paris): no. 601 (1856)

=*Lachnocladium taxiforme* (Mont.) Sacc., *Syll. fung.* (Abellini) 6: 740 (1888)

≡*Pterula humilis* Speg., *Revista Argent. Hist. Nat.* 1(2): 110 (1891)

≡*Pterula humilis* Speg., *Revista Argent. Hist. Nat.* 1(2): 110 (1891) var. *humilis*

≡*Pterula humilis* var. *tucumanensis* Speg., *Anal. Mus. nac. B. Aires*, Ser. 3 12: 280 (1909)

DESCRIPTIONS: Corner (1950, 1952b).

DISTRIBUTION IN BRAZIL: Rio Grande do Sul (Corner 1952b).

Pterula taxiformis* var. *gracilis Corner, *Ann. Bot.*, 16: 568 (1952)

DESCRIPTIONS: Corner (1952b, 1970).

DISTRIBUTION IN BRAZIL: Pará, Belém (Corner 1952b).

Pterula tenuissima (M.A. Curtis) Corner, *Ann. Bot. Mem.* 1: 524 (1950)

≡*Typhula tenuissima* M.A. Curtis, *Am. Journ. Art. Scienc.* 6: 351 (1848)

DESCRIPTIONS: Corner (1950, 1952b).

DISTRIBUTION IN BRAZIL: Rio de Janeiro, Rio de Janeiro (Corner, 1952b).

Pterula typhuloides Corner, *Ann. Bot. Mem.* 1: 698 (1950)

DESCRIPTION: Corner (1950).

DISTRIBUTION IN BRAZIL: Paraná (Meijer 2006).

Pterula uleana Henn., *Hedwigia* 36(4): 197 (1897)

DESCRIPTIONS: Corner (1950, 1952b, 1970).

Fig. 5A

BASIDIOMES pteruloid up to 6 cm tall, bushy, strongly branched, subfasciculate, pale brown (10YR 6/) to very pale brown (10YR 8/3). STEM up to 6 x 1 mm, glabrous, brownish yellow (10YR 6/6), resembling several stems anastomosed. HYPHAL SYSTEM dimitic; skeletal hyphae pale ochraceous, 2-7 μm wide, with thickened walls up to 1 μm ; generative hyphae hyaline, 2-5 μm wide, thin-walled, clamped. BASIDIA 22-25 x 5-6 μm , subclavate, 4-sterigmata. CYSTIDIA 25-30 x 4-9 μm , thin walled, subventricose to capitate. CAULOCYSTIDIA absent. BASIDIOSPORES 2.5-3.5 X 5.5 to 7.5 μm white, smooth, ellipsoid, slightly thickened wall, apiculus 0.8 μm

SPECIMENS EXAMINED: BRAZIL: Rio Grande do Sul, São Leopoldo, 1930, J. Rick (BPI295287, BPI295317); Rio Grande do Sul, Jan 1922, J. Rick (BPI295318); Bahia, var. *gracillima*, Torrend, C., (BPI333091).

DISTRIBUTION IN BRAZIL: Santa Catarina (Hennings 1897, TYPE); Rio Grande do Sul; Rio de Janeiro; Bahia (Corner 1952b); Paraná (Meijer 2006).

REMARKS: Four specimens from BPI, determined by Corner, were analyzed, including the type of *P. uleana* var. *gracillima*. It is possible that there are three different species among these collections. The main difference was on the size and robustness of the basidiomes. The collection BPI295318 is the largest one and its size is about 6 cm, what is quite different from the other collections that never reach more than 2.5 cm. *Pterula uleana* var. *gracillima* has the smaller and very slender basidiomes and it is probably a different species, but the collection is too old and fragile for the microscopic study. New collections from the type locality would be necessary to provide more information about this putative species complex. Corner (1952) did not report the presence of cystidia in the hymenium of any of the specimens, however they are present and are delicate, thin walled and difficult to find.

Pterula uleana* var. *gracillima Corner, *Ann. Bot.*, 16: 568 (1952)

DESCRIPTION: Corner (1952b).

DISTRIBUTION IN BRAZIL: Bahia (Corner 1952b, TYPE);

REMARKS: As in the remarks of *P. uleana*, the type collection is very old to determine if it is really just a variety or another species. Macroscopically it is very different from other collections of *P. uleana* var. *uleana* determined by Corner.

Pterula velohora Dentinger [as '*velohortus*'], *Index Fungorum* 98: 1 (2014)
Fig. 6K

DESCRIPTION: Dentinger (2014 as *P. velohortus*).

DISTRIBUTION IN BRAZIL: Santa Catarina, Corupá (in this study)

SPECIMEN EXAMINED: BRAZIL: Santa Catarina, Corupá, Reserva Particular de Patrimônio Natural Emílio Fiorentino Battistella, Rota das Cachoeiras, 12 Dec 2011, B. Dentinger (FLOR42555).

REMARKS: This species is known only for the mutualism with ants of *Apterostigma pilosum* group, its identification is based on the morphology of the ant's nests and by molecular markers. This is the first record of this species from Brazil.

Pterula sp. 1

Fig. 5B, 6I

BASIDIOMES pteruloid up to 2.1 cm tall, bushy, branched, subfasciculate, white (5YR 8/2) to very pale brown (10YR 8/3), monopodial with adventitious branches. STEM up to 6 x 1 mm, glabrous, indistinct, resembling several stems anastomosed. Arising from a mycelial mass on the soil. Directly on the soil. HYPHAL SYSTEM dimitic; skeletal hyphae pale ochraceous, 3-5 μm wide, thick-walled; generative hyphae hyaline, 2-3 μm wide, thin-walled, clamped. BASIDIA clavate 19-25 x 6-8 μm , 4-sterigmata up to 5 μm . CYSTIDIA absent. CAULOCYSTIDIA absent. BASIDIOSPORES 2.9-3.5 x 4.8-5.8 μm white, smooth, ellipsoid, slightly thickened wall. STEM SURFACE not sclerotoid.

SPECIMEN EXAMINED: BRAZIL: Minas Gerais, Virgínia, Ribeirão do Canga, Fazenda do Canga, 20 Dec 2013, C.A. Leal-Dutra 76 (FLOR0056383).

REMARKS: This species was found directly on the soil arising from a mycelial mass spread on the ground, what, apparently, is not common among other species of *Pterula*. It can be compared to *P. uleana* var. *uleana* but with lighter colored basidiomes, slightly smaller basidiospores and the presence of the mycelial mass spread on the ground.

Pterula sp. 2

Fig. 5C, 6J

BASIDIOMES pteruloid up to 2 cm tall, bushy, very slender, white (5YR 8/2) to very pale brown (10YR 8/3), monopodial with adventitious branches. STEM up to 0.2 mm wide, glabrous, indistinct. Arising from a long brown rhizomorph. On humus. HYPHAL SYSTEM dimitic; skeletal hyphae pale ochraceous, 2.5-5 μm wide, thick-walled; generative hyphae hyaline, 2-5 μm wide, thin-walled, clamped. BASIDIA not observed. CYSTIDIA absent. CAULOCYSTIDIA absent. BASIDIOSPORES 3-3.5 x 7.5-8 μm white, smooth, ellipsoid, slightly thickened wall.

SPECIMEN EXAMINED: BRAZIL: Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Parque Nacional da Tijuca, pr. Casa do Pesquisador, 26 Nov 2014, C.A. Leal-Dutra 128 (CALD128).

REMARKS: This species was found on humus with a long brown rhizomorph. It compares to *P. uleana* var. *gracillima* but the basidiome is monopodial in contrast with the multifid/bifid basidiome of *P. uleana*. Also, the spores of *Pterula* sp. 2 are slightly longer. Due to the fragility of the type of *P. uleana* var. *gracillima* it was not possible to effectively compare the microscopic characters.

Pterula sp. 3

Fig. 3B

BASIDIOMES pteruloid up to 17 x 0.1 mm, simple, tapering, drying very pale brown (10YR 8/4). On dead leaves of dicotyledons. HYPHAL SYSTEM dimitic; skeletal hyphae pale ochraceous brown, up to 6 x 450 μm or longer, thick walled, walls up to 2 μm , With some swelling in the base of stem; generative hyphae hyaline, 2-3 μm wide, thin-walled, clamped. BASIDIA up to 26 μm , clavate, 4-sterigmata, clamped. CYSTIDIA 30-45 x 5-10 μm subclavate to ventricose, thin walled. CAULOCYSTIDIA absent. BASIDIOSPORES 13.3-16 x 4.6-6 μm , hyaline, smooth, ellipsoid, subacute, slightly flattened laterally, aguttate (sometimes with a small droplet). STEM SURFACE not sclerotoid.

SPECIMEN EXAMINED: BRAZIL: Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Parque Nacional da Tijuca, trilha acima do Centro de Visitantes, 24 Nov 2011, M.A.Neves 851 (RB524909).

DISTRIBUTUION IN BRAZIL: Rio de Janeiro, Rio de Janeiro (in this study).

REMARKS: This species is very near to *P. epiphylla*, however it lacks caulocystidia that is a remarkable feature for determine it. *Pterula* sp. 3 also compares to *P. gracilis* but it was not possible to determine it because of the little amount of collected basidiomes.

Acknowledgements

The authors would like to thank Felipe Ruppenthal for the drawings and LCME-UFSC for the SEM analysis. We thank the following herbaria and their staff for the loans and visits: BPI (Shannon Dominick), MBM (André de Meijer) and RB (Aníbal Carvalho). The first author thanks the Coordination for the Improvement of Higher Education Personnel (CAPES) for the masters scholarship. The Micolab team is acknowledged for the scientific discussions.

Literature cited

- Berkley MJ, Cook MC. 1876. The Fungi of Brazil, including those collected by J. W. H. Trail, Esq., M.A., in 1874. J. Linn. Soc., Bot. v. 15, n. 86, p. 391-398.
- Corner E.J.H. 1950. A monograph of *Clavaria* and allied genera. [S.l.]: London, Geoffrey Cumberlege, Oxford University Press., p. 740.
- Corner E.J.H. 1952a. Addenda Clavariaceae I. Two new pteruloid genera and *Deflexula*. Annals of Botany London, v. 16, n. 62, p. 269-291.
- Corner E.J.H. 1952b. Addenda Clavariaceae II. Annals of Botany London, v. 16, n. 64, p. 531-569.
- Corner E.J.H. 1970. Supplement to "a monograph of *Clavaria* and allied genera". Beihefte zur Nova Hedwigia, v. 33, p. 1-299.
- Dentinger BTM. Nomenclatural novelties, Index Fungorum v. 98, n. 1, 2014.
- Dentinger BTM, McLaughlin DJ. 2006. Reconstructing the Clavariaceae using nuclear large subunit rDNA sequences and a new genus segregated from *Clavaria*. Mycologia, v. 98, n. 5, p. 746-62.
- Donk MA. 1964. A conspectus of the families of Aphyllophorales. Persoonia, v. 3, p. 199-324.
- Hennings P. 1897. Beiträge zur pilzflora Südamerikas II. Hedwigia. Dresden, v. 36, n. 4, p. 190-246.
- Hennings P. 1904. Fungi amazonici I. a cl. Ernesto Ule collecti. II. Hedwigia. Dresden, v. 43, n. 3, p. 154-186.
- Largent DL. 1986. How to identify Mushrooms to genus I: Macroscopic Features., Mad River Press, Eureka, California, p. 166.
- Largent DL, Johnson D, Watling R. 1977. How to identify Mushrooms to genus III: Microscopic Features, 3rd edn. Mad River Press, Eureka, California, p. 148.
- Larsson KH. 2007. Re-thinking the classification of corticioid fungi. Mycological research, v. 111, n. 9, p. 1040-1063.
- Latke JE. 1997. Revisión del género *Apterostigma* Mayr (Hymenoptera: Formicidae). Arquivos de Zoologia da Universidade de São Paulo, São Paulo, v. 34, n. 5, p. 121-221.
- Lloyd CG. 1919. The Genus *Pterula*, Mycological Writings, v. 5 n. 60, p. 863-870.
- Matheny PB, Curtis JM, Hofstetter V, Aime MC, Moncalvo JM, Ge ZW, Yang ZL, Slot JC, Ammirati JF, Baroni TJ, Bougher NL, Hughes KW, Lodge DJ, Kerrigan RW, Seidl MT, Aanen DK, DeNitis M, Daniele GM, Desjardin DE, Kropp BR, Norvell LL, Parker A, Vellinga EC, Vilgalys R, Hibbet DS. 2006. Major clades of Agaricales: a multilocus phylogenetic overview. Mycologia, v. 98, n. 6, p. 982-995.
- Montagne JFC. 1856. Sylloge generum specierumque plantarum cryptogamarum. 1-498.
- Munsell Soil Color Charts. 1975. "Munsell color." Macbeth Division of Kollmorgen Corporation, Baltimore.
- Thiers B. [continuously updated]. Index Herbariorum: A global directory of public herbaria and associated staff. New York Botanical Garden's Virtual Herbarium.
<http://sweetgum.nybg.org/ih/>.

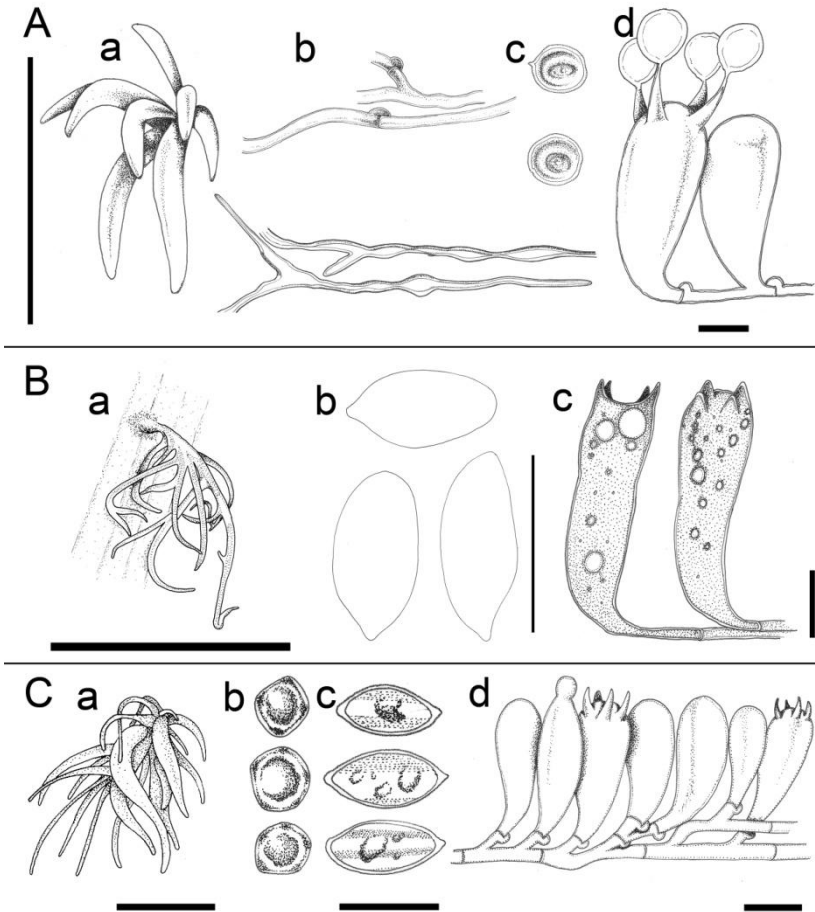


Fig. 1: A) *Deflexula lilaceobrunnea* a) basidiome (scale bar = 5mm), b) hyphae generative (up), skeletal (down), c) basidiospores , d) basidia (scale bar = 10 μ m); B) *Deflexula secundiramea* a) basidiome (scale bar = 1cm), b) basidiospores , c) basidia (scale bar = 10 μ m); C) *Deflexula subsimplex* a) basidiome (scale bar = 1cm), b) basidiospores in transversal view, c) basidiospores in longitudinal view, d) basidia and cystidia (scale bar = 10 μ m).

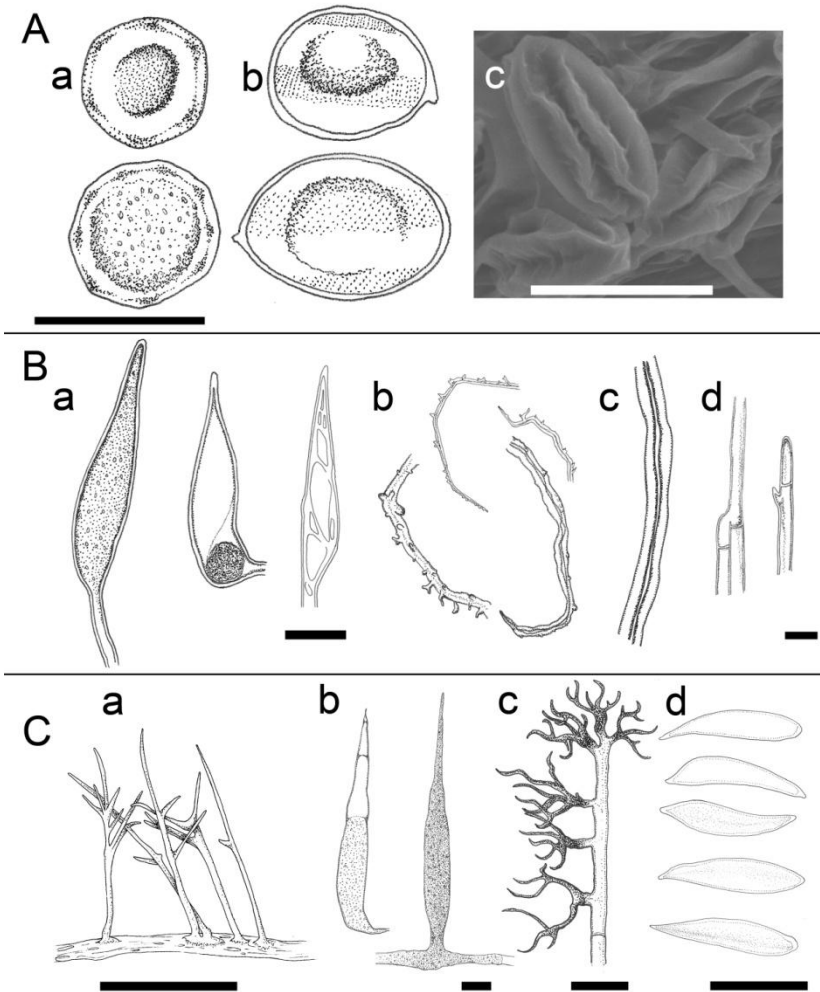


Fig. 2: A) *Deflexula sulcispora* a) basidiospores transversal view, b) basidiospores longitudinal view, c) basidiospores in scanning electron microscopy (SEM) (scale bar = 10 μ m); B) *Parapterulicium octopodites* a) gloeocystidia, b) skeletal hyphae, c) skeletal hyphae inflated in KOH, d) generative hyphae (scale bar = 10 μ m); C) *Parapterulicium subarbusculum* a) basidiome (scale bar = 1cm), b) gloeocystidia, c) dichophyses, d) basidiospores (scale bar = 10 μ m).

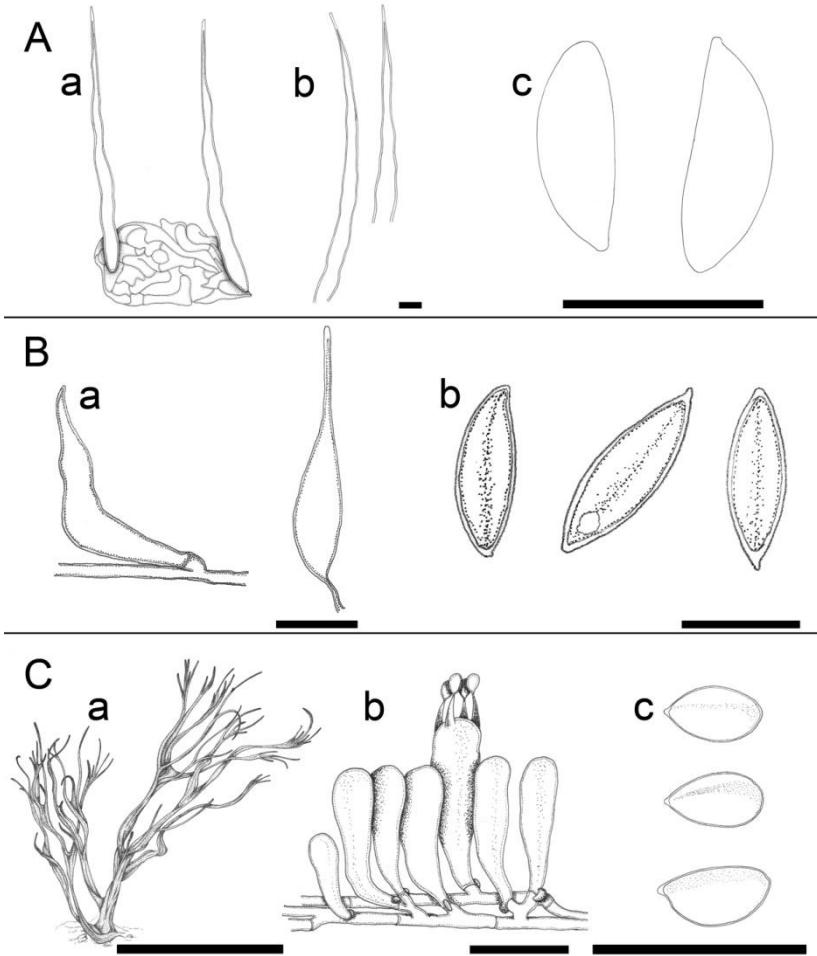


Fig. 3: A) *Pterula brunneosetosa* a) sclerotoid stem surface with caulocystidia, b) caulocystidia, c) basidiospores (scale bar = 10μm); B) *Pterula* sp. 3 a) cystidia, b) basidiospores (scale bar = 10μm); C) *Pterula harrisonii* a) basidiome (scale bar = 1cm), b) basidia and basidioles, c) basidiospores (scale bar = 10μm).

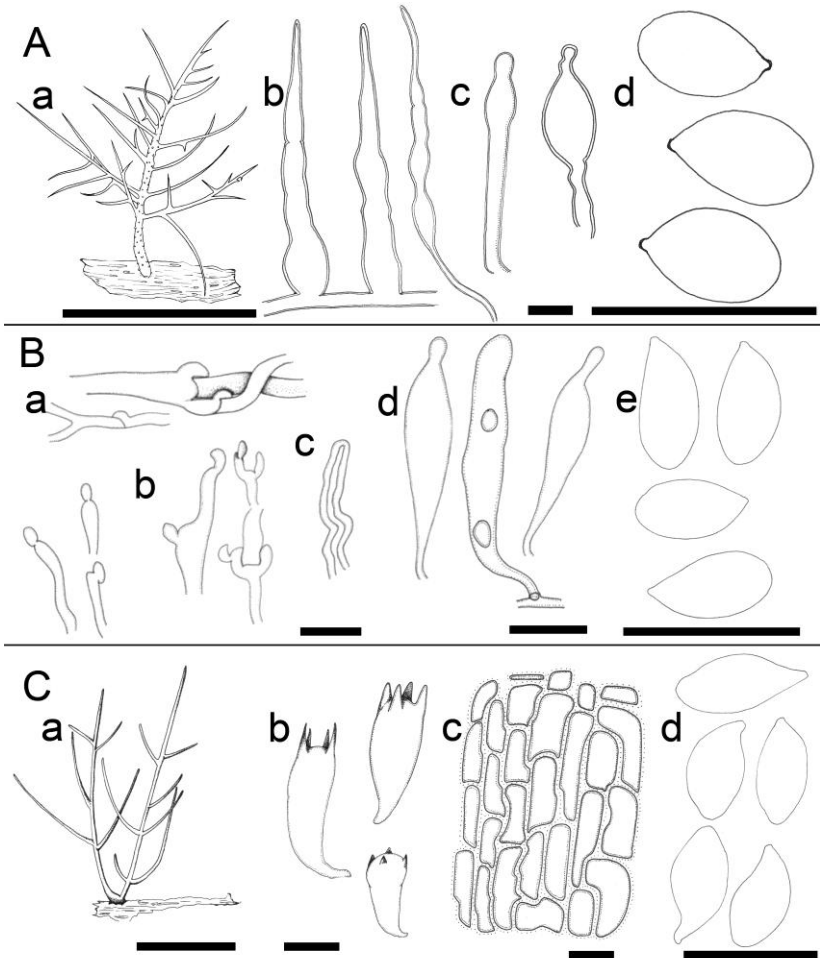


Fig. 4: A) *Pterula juruensis* a) basidiome (scale bar = 1cm), b) caulocystidia, c) generative hyphal endings, d) basidiospores (scale bar = 10 μ m); B) *Pterula moniliformis* a) generative hyphae branching and/or breaking from the clamps, b) skeletal hyphae, c) cystidia, d) basidiospores (scale bar = 10 μ m); C) *Pterula stipata* a) basidiome (scale bar = 1cm), b) basidia, c) agglutinated walls of superficial hyphae of the stem, d) basidiospores (scale bar = 10 μ m).

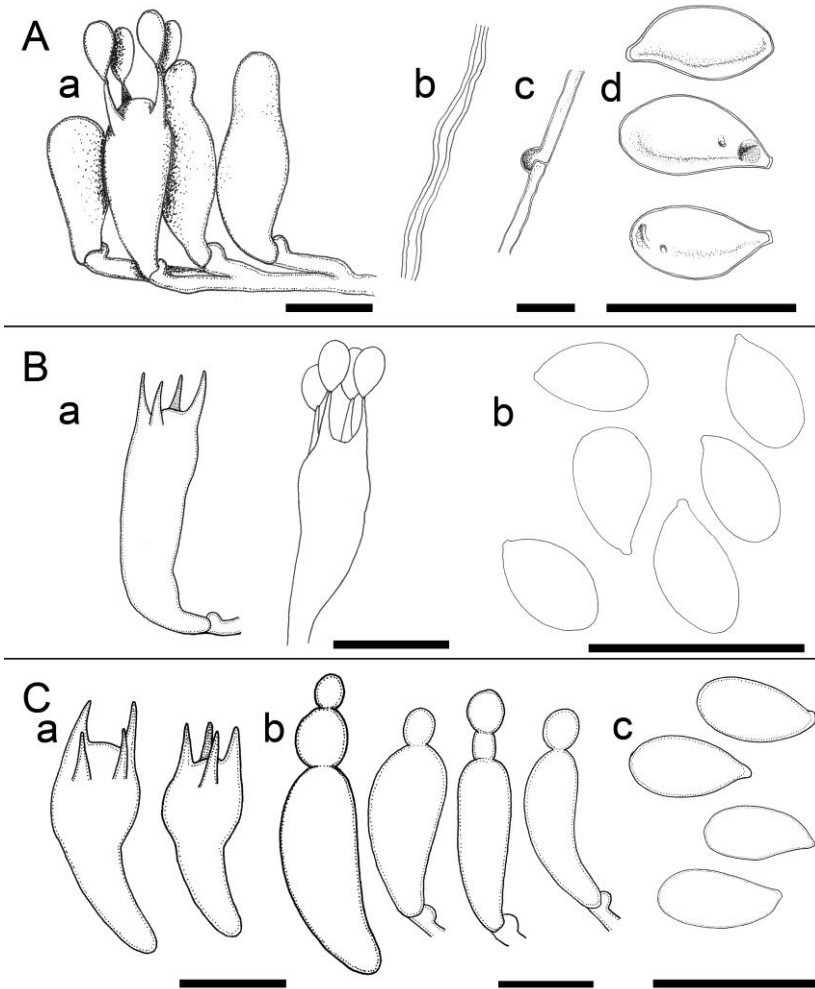


Fig. 5: A) *Pterula uleana* (BPI US0295318) a) basidia, cystidia and basidiolae, b) skeletal hyphae, c) generative hyphae, d) basidiospores (scale bar = 10µm); B) *Pterula* sp. 1 a) basidia, b) basidiospores (scale bar = 10µm); C) *Pterula* sp. 2 a) basidia, b) cystidia, c) basidiospores (scale bar = 10µm).

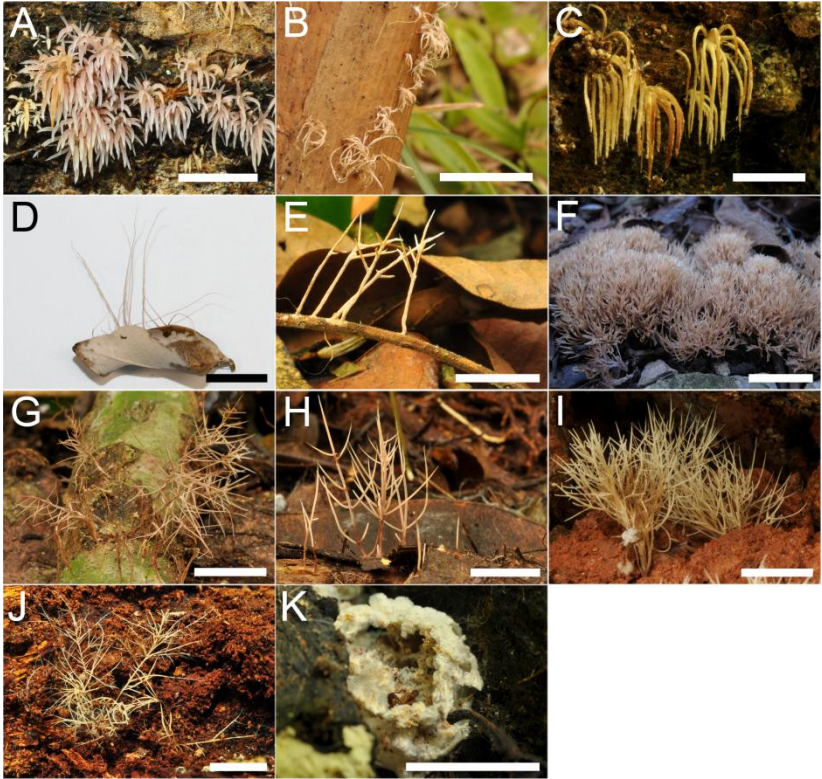


Fig. 6: A) *Deflexula lilaceobrunnea*, B) *Deflexula secundiramea*, C) *Deflexula subsimplex*, D) *Parapterulicium octopodites*, E) *Parapterulicium subarbusculum*, F) *Pterula harissonii*, G) *Pterula juruensis*, H) *Pterula stipata*, I) *Pterula* sp. 1, J) *Pterula* sp. 2, K) *Pterula velohorta* (scale bar = 1cm).

4.2 CAPÍTULO 2:

**CONTRIBUIÇÕES À FILOGENIA MOLECULAR DE ESPÉCIES
CORALOIDES DE PTERULACEAE (AGARICALES)**

CONTRIBUIÇÕES À FILOGENIA MOLECULAR DE ESPÉCIES CORALOIDES DE PTERULACEAE (AGARICALES)

Caio Ambrosio Leal Dutra, Mateus A. Reck, Bryn T. M. Dentinger, Maria Alice Neves.

INTRODUÇÃO

Atualmente, Pterulaceae Corner comporta cinco gêneros conhecidos de fungos coraloides: *Allantula* Corner, *Deflexula* Corner, *Parapterulicium* Corner, *Pterula* Fr. e *Pterulicium* Corner (CORNER, 1970; DENTINGER; MCLAUGHLIN, 2006), os quais possuem poucos caracteres para a definição genérica.

Morfologicamente, *Parapterulicium* se difere dos demais gêneros principalmente pela presença de gloecistídios e uma base ressupinada. *Allantula* se distingue pela combinação de caracteres macromorfológicos e a presença de cistídios. *Deflexula* é distinta das demais apenas pelo hábito pendente dos basidiomas. *Pterulicium* pela presença de uma base corticioide. *Pterula* é diagnosticada pelo hábito ereto dos basidioma e ausência de base corticioide e gloecistídios (CORNER, 1970).

Recentes estudos voltaram a atenção para Pterulaceae por mostrar que fungos cultivados por algumas espécies de formigas do gênero *Apterostigma* pertenciam à família. Estes estudos de filogenia molecular, através da análise da região LSU (subunidade maior do ribossomo), envolvendo *Deflexula*, *Pterula* e *Pterulicium* sugeriram que estes gêneros são parafiléticos (MUNKACSI *et al.*, 2004; DENTINGER *et al.*, 2009). Todavia, estes estudos não tiveram como finalidade a resolução de problemas taxonômicos, portanto, esta parafilia ficou carecendo de investigações mais aprofundadas.

Visando aumentar o conhecimento sobre as relações taxonômicas dos membros coraloides de Pterulaceae, o presente estudo propõe uma nova filogenia, baseada na região LSU, com uma amostragem de táxons mais expandida, uma nova filogenia baseada na região ITS (espaçador interno transcrito do rDNA), além de uma filogenia baseada na combinação das duas regiões. Este é o primeiro estudo molecular proposto a investigar as relações dos táxons exclusivamente relacionados a Pterulaceae.

MATERIAL E MÉTODOS

Para a realização deste trabalho foram utilizadas 74 sequências provenientes de basidiomas ou de culturas de ninhos de *Apterostigma* que foram extraídas e trabalhadas no MICOLAB da Universidade Federal de Santa Catarina. Sequências adicionais já existentes foram adquiridas a partir do GenBank. Outras sequências, ainda, foram geradas pelo Dr. Bryn Dentinger no RBG Kew, que utilizou os protocolos já reportados em Dentinger *et al.* (2010). Uma tabela com a lista de materiais utilizados pode ser encontrada na seção *Material e Métodos* geral desta dissertação na página 8.

O DNA total foi extraído utilizando o kit de extração de DNA PowerPlant® Pro da MO BIO ou o protocolo adaptado de Doyle & Doyle, (1987). Posteriormente foram amplificadas as regiões ITS e LSU utilizando-se, respectivamente, os pares de *primers* ITS6/ITS8 (DENTINGER; MARGARITescu; MONCALVO, 2010) e LR7/LR0R (WHITE *et al.*, 1990), seguindo as recomendações do fabricante da 2x PCR Taq Master Mix ABM. Os ciclos de amplificação para ITS e LSU foram, respectivamente: ITS) Desnaturação inicial a 95°C por 2 minutos seguida de 5 ciclos de 95°C por 30s, 60°C por 30s e 72°C por 60s e mais 25 ciclos de 95°C por 30s, 55°C por 30s e 72°C por 60s com extensão final a 72°C por 10 minutos; LSU) Desnaturação inicial a 95°C por 2 minutos seguida de 30 ciclos de 95°C por 30s, 50°C por 30s e 72°C por 60s com extensão final a 72°C por 10 minutos. Os resultados foram verificados em eletroforese com gel de agarose a 0.8%.

Para a reação de sequenciamento foi utilizado o kit de sequenciamento BigDye® Terminator v1.1 da Applied Biosystem, seguindo as recomendações do fabricante. Os *primers* utilizados para o sequenciamento da região ITS foram os mesmos utilizados na amplificação. Para a região LSU utilizou-se o par de *primers* LR5/LR0R (WHITE *et al.*, 1990). O sequenciamento foi conduzido na Rede de Plataformas Tecnológicas do Programa de Desenvolvimento Tecnológico em Insumos para Saúde (PDTIS) da FIOCRUZ no Centro de Pesquisas Renné Rachou em Belo Horizonte como parte da colaboração com o Projeto BRBOL.

As novas sequências geradas foram inspecionadas e corrigidas manualmente no software Geneious v6.8 (<http://www.geneious.com>, KEARSE *et al.*, 2012). Foi gerada uma matriz de cada marcador e uma terceira matriz combinada (COM) com os dois conjuntos de dados. As matrizes finais, com todas as sequências, foram alinhadas utilizando o software MAFFT v7 (KATO, 2013) na plataforma CIPRES Science

gateway v.3.3 (phylo.org) (MILLER; PFEIFFER; SCHWARTZ, 2010) com as estratégias Q-INS-i e G-INS-i para ITS e LSU, respectivamente, e corrigidas manualmente através do software Mega v6 (TAMURA *et al.*, 2013).

O modelo de substituição de nucleotídeos mais adequado para cada matriz foi estimado pelo critério AIC (*Akaike information criterion*) no software Jmodeltest v2.1.6 (DARRIBA *et al.*, 2012).

Foram realizadas duas análises filogenéticas distintas para os três conjuntos de dados, sempre considerando gaps como dados faltantes: 1) As análises de máxima verossimilhança foram realizadas no programa PhyML v.3.1 (GUINDON *et al.*, 2010), disponível na plataforma phylogeny.fr (DEREEPER, A.; GUIGNON, V. *et al.*, 2008), usando os melhores modelos de substituição estimados e com 400 ciclos de reamostragem por bootstrap (BS); 2) As análises bayesianas foram realizadas no programa Mr. Bayes v. 3.2.3 (RONQUIST; HUELSENBECK, 2003), disponível na plataforma CIPRES Science gateway v.3.3 (www.phylo.org) (MILLER; PFEIFFER; SCHWARTZ, 2010), usando os melhores modelos de substituição estimados já citados. Cada análise foi feita com 10 milhões de gerações, começando a partir de árvores aleatórias, com duas corridas independentes, cada uma com quatro cadeias correndo paralelamente, amostrando as árvores geradas a cada 1000 gerações. O valor da fase inicial de *burn-in* foi 0.25, sendo que todas as árvores com o melhor valor de verossimilhança e retidas durante a análise foram usadas para calcular a árvore consenso a partir da regra de maioria de 50%, assim como a probabilidade posterior dos ramos (PP).

Nos cladogramas gerados, um ramo foi considerado bem suportado se o seu valor de BS foi maior do que 70% e/ou a PP foi maior do que 0.9.

A espécie *Radulomyces confluens* foi utilizada como grupo externo. A escolha foi baseada em estudos prévios que colocam esse táxon próximo aos gêneros coraloides de Pterulaceae (LARSSON, 2007).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os alinhamentos finais das matrizes de ITS, LSU e COM resultaram em 428/941 (caracteres estáveis, parcimônio-informativos), 217/776 (caracteres estáveis, parcimônio-informativos) e 433/1453 (caracteres estáveis, parcimônio-informativos) pares de bases, respectivamente. Os melhores modelos de substituição estimados para

cada matriz, assim como as frequências de bases e parâmetros foram: TPM2uf+I+G para a matriz de ITS, com frequências de A=0.2376, C=0.1872, G=0.1842 e T=0.3910, gamma shape=0.7510 e p-inv=0.1280; GTR+G para a matriz de LSU, com frequências de A=0.2600, C=0.2100, G=0.2890 e T=0.2411 e gamma shape=0.4990; TPM2uf+I+G com frequências de A=0.2232, C=0.2050, G=0.2064 e T=0.3653, gamma shape=0.6910 e p-inv=0.1990 para a porção ITS da matriz de dados combinada e GTR+I+G com frequências de A=0.2710, C=0.1996, G=0.2872 e T=0.2422, gamma shape=0.7990 e p-inv=0.4470 para a porção LSU da matriz de dados combinada.

As regiões ITS1 e ITS2 do marcador ITS se mostraram extremamente variáveis entre as amostras, apresentando diversos *indels* e dificultando sobremaneira o processo de alinhamento e correção das matrizes. Isso se fez notar principalmente nas sequências provenientes dos cultivares de formigas *Apterostigma* (*P. nudihorta* Dentinger e *P. velohorta* Dentinger).

Os resultados apresentados sustentam um rearranjo de gêneros coraloides de Pterulaceae, considerando que as monofilias de *Pterula* e de *Deflexula*, em suas definições taxonômicas clássicas, não são suportadas.

Nos filogramas gerados (figuras 1-3) é possível observar sete clados distintos que se repetem nas três árvores (exceto o clado *Deflexula* na árvore da matriz combinada). Como nem todos os espécimes amostrados estão presentes em todas as matrizes, alguns ramos não foram bem suportados pelas análises. Entretanto, alguns clados, independente da análise ou do marcador utilizado, se mantiveram coesos.

A matriz combinada (COM) contou apenas com táxons que tinham os dois marcadores disponíveis para o mesmo espécime. Os resultados da análise combinada apresentaram uma configuração diferente das demais.

Na tentativa de identificar clados fortemente suportados, baseados na análise dos dados apresentados neste capítulo, os clados a seguir são indicados para uma classificação atualizada de Pterulaceae.

Clado *Pterula sensu stricto* (ITS PP=1, BS=100 / LSU PP=0.8, BS=66 / COM PP=1, BS=100) – *Pterula* foi o gênero mais amostrado neste trabalho. Em todas as árvores as espécies de *Pterula* ficaram entremeadas por espécies de outros gêneros. O grupo que se manteve junto foi identificado pelos espécimes AFTOL1895, DED7255 e ACM648, presentes em ambas as matrizes. Na árvore de ITS outros

espécimes amostrados se juntaram ao clado: *P. plumosa* (Schwein.) Fr., *P. subulata* Fr. e *P. verticillata* Corner. Por conter a espécie tipo do gênero, *Pterula plumosa*, o nome *Pterula* foi mantido para este clado.

Clado *Deflexula sensu stricto* (ITS PP=1, BS=99 / LSU PP=0.98, BS=60) (Figs. 4F e 4G) – A presença da espécie tipo *Deflexula fascicularis* (Bres. & Pat.) Corner sugere que este é o clado original do gênero. Assim como *Pterula sensu strictu*, *Deflexula* passa a necessitar de uma nova circunscrição, já que a presença de espécies com basidiomas deflexos no clado /1 indica que o caráter não é bem suportado para diagnosticar o gênero. Na árvore combinada apenas *D. lilaceobrunnea* está representada no clado, então por não conter outras espécies semelhantes para se agrupar sua posição ficou incerta, apesar de se agrupar com CALD72, este espécime nas outras árvores se posicionou dentro do clado /1.

Clado *Pterulicium* (ITS PP=1, BS=99 / LSU PP=0.98, BS=93 / COM PP=1, BS=100) (Fig. 4H) – O gênero monoespecífico *Pterulicium* e a espécie *Deflexula secundiramea* (Speg.) Corner são agrupados neste clado com alto suporte. Corner (1970) já havia observado que os espécimes desidratados de *D. secundiramea* se assemelhavam aos de *Pterulicium xylogenum* (Berk. & Broome) Corner, entretanto com algumas diferenças morfológicas, os basidiomas de *D. secundiramea* seriam mais delgados, menos ramificados e arqueados. *Deflexula secundiramea* deve então ser recombinada no gênero *Pterulicium*.

Clado /phaeopterula (ITS PP=0.74, BS=94 / LSU PP=1, BS=83 / COM PP=0.99, BS=93) (Figs. 4A e 4B) – Este clado agrupa, a principio, duas espécies relacionadas por apresentarem basidioma arbustivo, coloração dos ramos rosadas e estipe acastanhado, *Pterula juruensis* (Henn.) Corner e *P. stipata* Corner. Entretanto, apenas estas características não as separam de outras espécies da família. *Pterula juruensis* foi descrita por Hennings (1904) como *Phaeopterula juruensis* Henn. Assim, o nome *Phaeopterula* Henn. é resgatado para o clado.

Clado /myrmecopterula (ITS PP=1, BS=95 / LSU PP=0.82, BS=56 / COM PP=0.9, BS=37) (Figs. 4C, 4D e 4E) – Apesar dos baixos valores de BS e PP na árvore de LSU e no BS na análise combinada, nas outras análises o clado teve suporte extremamente significativo. Este clado agrupa duas espécies cultivadas por formigas do grupo *Apterostigma pilosum* Mayr: *Pterula nudihorta* e *P. velohorta*. Além disso, inclui *P.*

moniliformis (Henn.) Corner, *P. harrisonii*, entre outras sequências que possivelmente representam novas espécies (CALD58 e EPF174). Dentinger *et al.* (2009) demonstraram as relações de *P. velohorta* e *P. nudihorta* com *P. moniliformis* dentro do clado, que agora recebe o aporte dos outros táxons citados. Por agrupar os cultivares de *Apterostigma* o clado recebe o nome de /myrmecopterula (Myrmeco = de formigas).

Clado /1 (ITS PP=1, BS=70 / LSU PP=0.97, BS=65 / COM PP=1, BS=48) (Figs. 4I, 4J e 4K) – Este clado agrupa diversas espécies de *Pterula* e *Deflexula*. O clado tem alto suporte de probabilidade posterior, apesar dos baixos valores de BS. Muitas espécies coletadas no Brasil que se encaixaram neste clado apresentam basidiomas simples ou com poucos ramos adventícios. Para a proposição do gênero, no entanto, ainda é necessário um maior número de sequências e um estudo mais acurado dos táxons incluídos para uma melhor determinação da circunscrição do gênero.

Clado /2 (ITS PP=1, BS=99 / LSU PP=1, BS=84 / COM PP=1, BS=100) (Figs. 4L e 4M) – Neste clado encontram-se espécies com ramos verticilados, base do estipe negro, ápice do estipe e base das ramificações marrons avermelhadas e terminações brancas. Na árvore combinada este clado aparece como grupo irmão de /phaeopterula, nas outras eles se separam. O aporte de mais dados em futuras análises podem ajudar a resolver este posicionamento.

Clado /corticiopterula (LSU PP=0.77, BS=51) – Apesar do baixo suporte este clado agrupa as espécies corticioides *Merulicium fusisporum* (Romell) J. Erikss. & Ryvarden e *Coronicium alboglaucum* (Bourdot & Galzin) Jülich formando o clado /corticiopterula. Larsson (2007) já havia proposto que alguns gêneros corticiodes pertenciam a Pterulaceae. Com a inserção de outros táxons indicados por Larsson (2007) espera-se melhorar a resolução deste clado.

CONCLUSÃO

Apesar de as proposições feitas neste capítulo apresentarem alguns suportes estatísticos relativamente altos, ainda são necessárias análises morfológicas mais aprofundadas de vários dos espécimes para a melhor definição de circunscrição de cada gênero para delimitar os caracteres morfológicos diagnósticos.

Em relação à árvore combinada, é necessário que os táxons não amostrados nesta matriz tenham o outro marcador sequenciado do mesmo espécime para que novas sequências combinadas possam ser agregadas em uma futura análise.

Alguns táxons que aparecem nos filogramas apresentados, aparentemente não foram identificados corretamente, visto que alguns espécimes aparecem distantemente relacionados entre si. A determinação correta destes espécimes é necessária para um melhor entendimento dos resultados obtidos.

Parapterulicium e *Allantula* são dois gêneros de Pterulaceae que não foram amostrados neste trabalho. O aporte de novas sequências de outras espécies e gêneros de Pterulaceae pode alterar a topologia ou os valores de suporte das árvores apresentadas. Como objetivos para trabalhos futuros pretende-se aumentar a amostragem dos táxons e, para todos os táxons, sequenciar outros marcadores que possibilitem melhorar a resolução das hipóteses filogenéticas.

REFERÊNCIAS

CORNER, E. J. H. Supplement to “a monograph of *Clavaria* and allied genera”. *Beihefte zur Nova Hedwigia*, v. 33, p. 1-299, 1970.

DARRIBA, D. *et al.* jModelTest 2: more models, new heuristics and parallel computing. *Nature Methods*, v. 9, n. 8, p. 772, 2012.

DENTINGER, B. T. M.; MCLAUGHLIN, D. J. Reconstructing the Clavariaceae using nuclear large subunit rDNA sequences and a new genus segregated from *Clavaria*. *Mycologia*, v. 98, n. 5, p. 746-62, 2006.

DENTINGER, B. T. M. *et al.* Phylogenetic placement of an unusual coral mushroom challenges the classic hypothesis of strict coevolution in the *apterostigma pilosum* group ant-fungus mutualism. *Evolution; international journal of organic evolution*, v. 63, n. 8, p. 2172-2178, 2009.

DENTINGER, B. T. M.; MARGARITESCU, S.; MONCALVO, J. M. Rapid and reliable high-throughput methods of DNA extraction for use in barcoding and molecular systematics of mushrooms. *Molecular Ecology Resources*, v. 10, p. 628–633, 2010.

DEREEPER, A.; GUIGNON, V. *et al.* Phylogeny.fr: robust phylogenetic analysis for the non-specialist. *Nucleic Acids Res*, v. 36, p. W465-W469, 2008.

DOYLE, JJ; DOYLE, JL. A rapid isolation procedure for small quantities of fresh tissue. *Phytochemical Bulletin*, v. 19, p. 11-15, 1987.

GUINDON, S. *et al.* New Algorithms and Methods to Estimate Maximum-Likelihood Phylogenies: Assessing the Performance of PhyML 3.0. *Systematic Biology*, v. 5, n. 3, p. 307-321, 2010.

KATOH, S. MAFFT multiple sequence alignment software version 7: improvements in performance and usability. *Molecular Biology and Evolution*, v.30, p. 772-780, 2013.

KEARSE, M *et al.* Geneious Basic: an integrated and extendable desktop software platform for the organization and analysis of sequence data. *Bioinformatics*, v. 28, n. 12, p. 1647-1649, 2012.

LARSSON, K. H. Re-thinking the classification of corticioid fungi. *Mycological research*, v. 111, n. 9, p. 1040-1063, 2007.

MILLER, M.A.; PFEIFFER, W.; SCHWARTZ, T. Creating the CIPRES Science Gateway for inference of large phylogenetic trees. In: *Proceedings of the Gateway Computing Environments Workshop (GCE)*, 14 Nov. 2010, New Orleans, LA pp 1-8.

MUNKACSI, A. B. *et al.* Convergent coevolution in the domestication of coral mushrooms by fungus-growing ants. *Proceedings. Biological sciences / The Royal Society*, v. 271, n. 1550, p. 1777-1782, 2004.

RONQUIST, F.; HUELSENBECK J. P. MRBAYES 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. *Bioinformatics*, v. 19, p. 1572-1574, 2003.

TAMURA, K. *et al.* MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 6.0. *Molecular Biology and Evolution*, v. 30, p. 2725-2729, 2013.

WHITE, T. J.; BRUNS, T.; LEE, S.; TAYLOR, J. W. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: Innis MA, Gelfand DH, Sninsky JJ, White TJ, eds. *PCR protocols: a guide to methods and applications*. New York: Academic Press., 1990, p. 315-322

Combinada

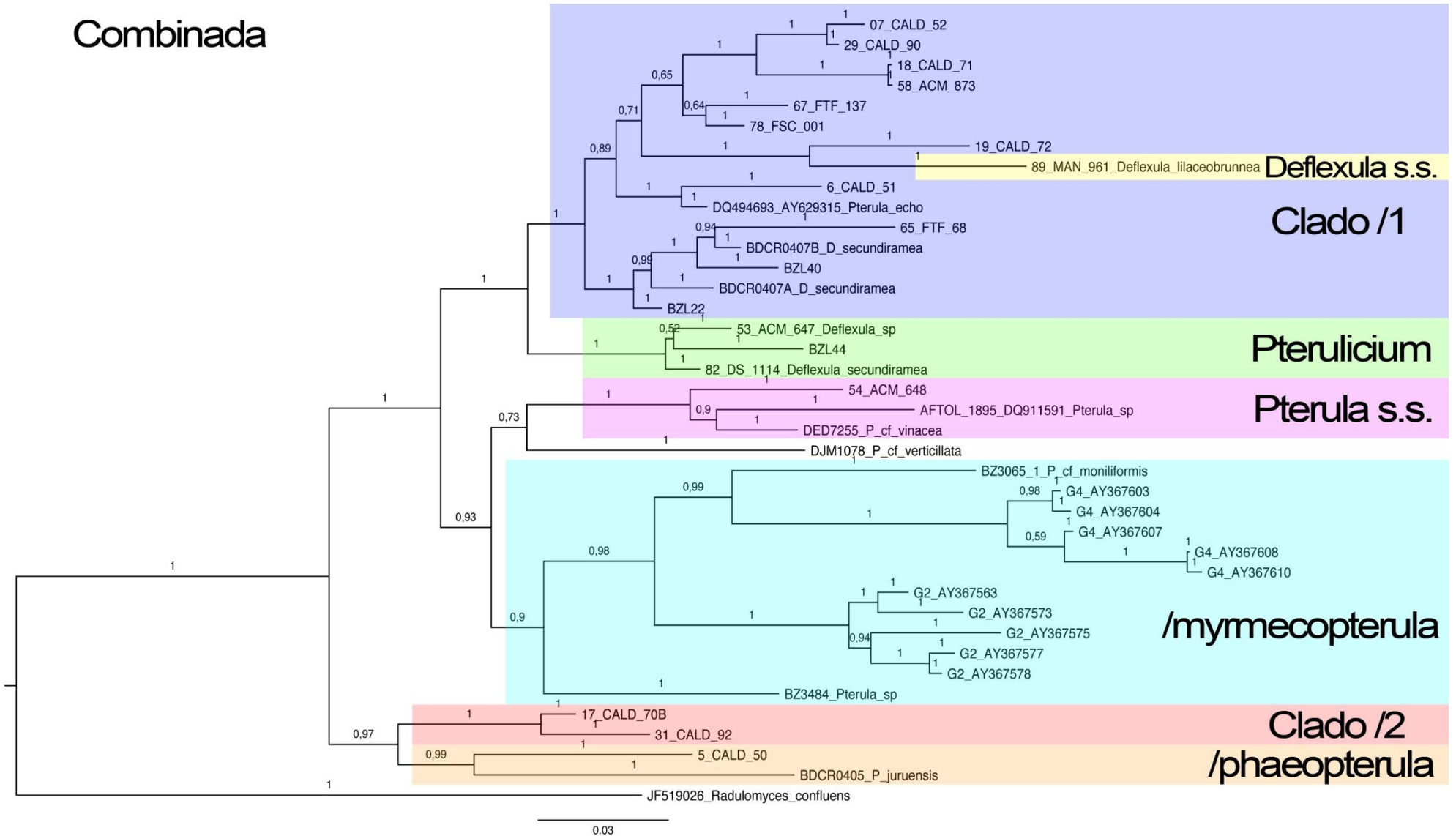


Figura 3: Árvore consenso a partir da regra de maioria de 50% da análise bayesiana combinada dos marcadores ITS e LSU. Valores de probabilidade posterior e *bootstrap* para os ramos são mostrado acima, em preto, e abaixo, em vermelho, respectivamente.



Figura 4: Basidiomas de Perulaceae: A) *Pterula stipata*, B) *Pterula juruensis*, C) *Pterula harrisonii*, D) *Pterula* sp. 1, E) *Pterula velohorta*, F) *Deflexula lilaceobrunnea*, G) *Deflexula lilaceobrunnea*, H) *Deflexula secundiramea*, I) *Deflexula subsimplex*, J) *Pterula* sp., K) *Pterula* sp., L) *Pterula* sp., M) *Pterula* sp.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Além dos resultados já apresentados anteriormente, a partir deste trabalho será feita uma grande contribuição para a Lista de Espécies da Flora do Brasil, atualizando de apenas um (*Deflexula subsimplex*) para 29 registros de Pterulaceae no Brasil, sendo 25 espécies a partir de levantamento bibliográfico e três novos registros.

A proposição da espécie *Pterula harrisonii* foi baseada exclusivamente em caracteres morfológicos observados após a desidratação do espécime. Novas coletas poderão eventualmente fornecer outras características a partir do basidioma fresco.

Os estudos moleculares devem andar lado a lado com a taxonomia clássica, tendo em vista os resultados apresentados no capítulo 2 desta dissertação. A proposta de reclassificação de Pterulaceae ainda requer a circunscrição morfológica com a definição de caracteres diagnósticos para todos os gêneros propostos.

Recentes trabalhos de campo resultaram na coleta das duas espécies de *Parapterulicium*, que em breve serão inseridas em novas análises moleculares quando obtivermos as sequências de ITS e LSU. Apesar do esforço para se recoletar *Allantula*, nenhum exemplar desse gênero foi encontrado e o táxon ainda figura como um enigma dentro da família.

Para dar continuidade a este trabalho, um projeto de doutorado foi encaminhado a agências de fomento para pleitear uma bolsa de doutorado no exterior. O projeto prevê a continuação dos estudos taxonômicos bem como o aprofundamento nos estudos da relação entre as formigas *Apterostigma* e seus cultivares (*P. nudihorta* e *P. velohorta*) através de análises filogenômicas, entre outras técnicas. Este projeto, caso financiado, será desenvolvido na Universidade de Aberystwyth, no País de Gales, em parceria com o Kew Gardens.

Espécies coraloides de Pterulaceae são fungos muito diminutos que passam despercebidos para muitas pessoas durante as coletas. Exigem paciência e dedicação para encontrá-los, vasculhar bem a serapilheira e revirar alguns troncos facilita a busca. A literatura sobre o grupo pode conter algumas falhas, o que pode acabar dificultando o processo de identificação do material.

REFERÊNCIAS

- BEGON, M.; TOWNSEND, C. R.; HARPER, J. L. *Ecologia: de indivíduos a ecossistemas*. Artmed, 2007. 752 p.
- BLACKWELL, M. The fungi: 1, 2, 3 ... 5.1 million species? *American journal of botany*, v. 98, n. 3, p. 426-38, 2011.
- CHAPELA, I. *et al.* Evolutionary history of the symbiosis between fungus-growing ants and their fungi. *Science*, v. 266, n. 5191, p. 1691-1694, 1994.
- CORNER, E. J. H. *A monograph of Clavaria and allied genera*. London, Geoffrey Cumberlege, Oxford University Press., 1950. p. 740
- CORNER, E.J.H. Addenda Clavariaceae I. Two new pteruloid genera and *Deflexula*. *Annals of Botany* London, v. 16, n. 62, p. 269-291, 1952a.
- CORNER, E.J.H. Addenda Clavariaceae II. *Annals of Botany* London, v. 16, n. 64, p. 531-569, 1952b.
- CORNER, E.J.H. Generic Names in Clavariaceae, *Trans. Br. Mycol. Soc.*, v. 35, n. 4, p. 285-298, 1952c.
- CORNER, E. J. H. Supplement to “a monograph of *Clavaria* and allied genera”. *Beihefte zur Nova Hedwigia*, v. 33, p. 1-299, 1970.
- DENTINGER, B. T. M.; MCLAUGHLIN, D. J. Reconstructing the Clavariaceae using nuclear large subunit rDNA sequences and a new genus segregated from *Clavaria*. *Mycologia*, v. 98, n. 5, p. 746-62, 2006.
- DENTINGER, B. T. M. *et al.* Phylogenetic placement of an unusual coral mushroom challenges the classic hypothesis of strict coevolution in the apterostigma pilosum group ant-fungus mutualism. *Evolution; international journal of organic evolution*, v. 63, n. 8, p. 2172-2178, 2009.
- DONK, M. A. A conspectus of the families of Aphyllophorales. *Persoonia*, v. 3, p. 199-324, 1964.

FIDALGO, O. Introdução à história da micologia brasileira. *Rickia*, v.3, p. 1–44, 1968.

FRIES, E. M. *Systema Mycologicum volumen I*, Ex Officina Berlingiana, Lund & Greifswald, v. 1, 1821, 520 p.

FRIES, E. M. *Systema orbis vegetabilis*. Lundae, 1825, 374 p.

FRIES, E. M. *Eclogae Fungorum*, *Linnaea*, Berlin, v.5, p. 497-553, 1830.

FRIES, E. M. *Summa vegetabilium Scandinaviae*, v.2, Holmiae. Bonnier, 1849, 320 p.

HAWKSWORTH, D. L. Fungal diversity and its implications for genetic resource collections. *Stud Mycol*, v. 50, p. 9-18, 2004.

HENNINGS, P. Beiträge zur pilzflora Südamerikas II. *Hedwigia*. Dresden, v. 36, n. 4, p. 190-246, 1897.

HENNINGS, P. Fungi amazonici I. a cl. Ernesto Ule collecti. II. *Hedwigia*. Dresden, v. 43, n. 3, p. 154-186, 1904.

HÖLLDOBLER, B.; WILSON, E. O. *The Ants*. Massachusetts: Harvard University Press, 1990. 732 p.

KIRK, P. M. *et al. Ainsworth and Bisby's Dictionary of the Fungi*. Wallingford: CABI, 2008. 771 p.

LARGENT, D. L. *How to identify Mushrooms to genus I: Macroscopic Features*, Mad River Press, Eureka, California, 1986, p. 166.

LARGENT, D. L.; JOHNSON, D.; WATLING, R. *How to identify Mushrooms to genus III: Microscopic Features*, 3rd edn. Mad River Press, Eureka, California, 1977, p. 148.

LARSSON, K. H.; LARSSON, E.; KÖLJALG, U. High phylogenetic diversity among corticioid homobasidiomycetes. *Mycological research*, v. 108, n. 09, p. 983-1002, 2004.

LARSSON, K. H. Re-thinking the classification of corticioid fungi.

Mycological research, v. 111, n. 9, p. 1040-1063, 2007.

LLOYD, C. G. The Genus *Pterula*, *Mycological Writings*, v. 5 n. 60, p. 863-870, 1919.

MATHENY, P. B. *et al.* Major clades of Agaricales: a multilocus phylogenetic overview. *Mycologia*, v. 98, n. 6, p. 982-995, 2006.

MUELLER, U. G. *et al.* The origin of the attine ant-fungus mutualism. *Quarterly Review of Biology*, v.76, n. 2, p. 169-197, 2001.

MUELLER, U. G. Ant versus fungus versus mutualism: ant-cultivar conflict and the deconstruction of the attine ant-fungus symbiosis. *The American naturalist*, v. 160, n. S4, p. S67-S98, 2002.

MUNKACSI, A. B. *et al.* Convergent coevolution in the domestication of coral mushrooms by fungus-growing ants. *Proceedings. Biological sciences / The Royal Society*, v. 271, n. 1550, p. 1777-1782, 2004.

PINE, E. M.; HIBBETT, D. S.; DONOGHUE, M. J. Phylogenetic relationships of cantharelloid and clavarioid Homobasidiomycetes based on mitochondrial and nuclear rDNA sequences. *Mycologia*, v. 91, n. 6, p. 944-963, 1999.

SCHULTZ, T. R.; BRADY, S. G. Major evolutionary transitions in ant agriculture. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, v. 105, n. 14, p. 5435-5440, 2008.

THIERS, B. Index Herbariorum: A global directory of public herbaria and associated staff. New York Botanical Garden's Virtual Herbarium. <http://sweetgum.nybg.org/ih/>, [atualizado continuamente].

VILLESEN, P. *et al.* Evolution of ant-cultivar specialization and cultivar switching in *Apterostigma* fungus-growing ants. *Evolution; international journal of organic evolution*, v. 58, n. 10, p. 2252-2265, 2004.