

Fernanda Tridapalli Fóes Linhares

**TAXONOMIA E FILOGENIA DE *PHYLLOBOLITES* SINGER  
(BOLETACEAE, BASIDIOMYCOTA)**

Dissertação submetida ao Programa de Pósgraduação 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: Profa. Dra. Maria Alice Neves

Coorientador: Prof. Dr. Pablo Perez Daniëls

FLORIANÓPOLIS  
2018

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

Linhares, Fernanda Tridapalli Fôes  
Taxonomia e filogenia de *Phyllobolites* Singer  
(Boletaceae, Basidiomycota) / Fernanda Tridapalli  
Fôes Linhares ; orientadora, Maria Alice Neves,  
coorientador, Pablo Perez Daniëls, 2018.  
115 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de  
Santa Catarina, Centro de Ciências Biológicas,  
Programa de Pós-Graduação em Biologia de Fungos,  
Algas e Plantas, Florianópolis, 2018.

Inclui referências.

1. Biologia de Fungos, Algas e Plantas. 2.  
Fungos. 3. Taxonomia. 4. Filogenia molecular. I.  
Neves, Maria Alice. II. Daniëls, Pablo Perez. III.  
Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de  
Pós-Graduação em Biologia de Fungos, Algas e Plantas.  
IV. Título.

**“Taxonomia e filogenia de *Phyllobolites* Singer  
(Boletaceae, Basidiomycota)”**

por

**Fernanda Tridapalli Fóes  
Linhares**

Dissertação julgada e aprovada em sua forma final pelos membros titulares da Banca Examinadora (Port. 03/PPGFAP/2018) do Programa de Pós-Graduação em Biologia de Fungos, Algas e Plantas - UFSC, composta pelos Professores Doutores:

Banca Examinadora:



Prof. Dra. Maria Alice Neves

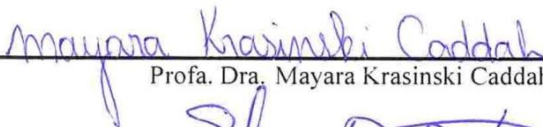
*Prof. Dr. Elisandro Ricardo Drechsler Santos*

Coordenador

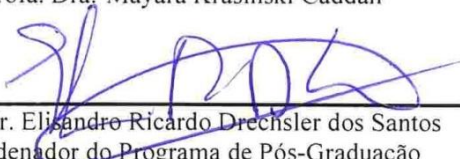
Pós-Graduação em Biologia de Fungos, Algas e Plantas - UFSC



Prof. Dra. Larissa Triveller Pereira - Videoconferência



Prof. Dra. Mayara Krasinski Caddah



Prof. Dr. Elisandro Ricardo Drechsler dos Santos  
Coordenador do Programa de Pós-Graduação  
em Biologia de Fungos, Algas e Plantas

Florianópolis, 22 de março de 2018.



## AGRADECIMENTOS

Agradeço imensamente a cada pessoa que cruzou meu caminho e esteve presente durante esse ciclo. Dois anos que duraram décadas de muito aprendizado, transformações e amadurecimento. À todas que à sua maneira influenciaram em cada passo e escolha minha, às que caminharam ao meu lado, às que me fizeram sair da zona de conforto, às que me mostraram que todo ato é político, às que me foram inspiração de luta e resistência e àquela que me é uma constante lembrança que a vida é uma grande obra de arte. À galera da bio, que tava presente em todos os momentos, não deixando que eu me perdesse e fosse engolida pelo mestrado e me mostrando na prática que é melhor errarmos juntas do que acertarmos sozinhas. À todas as trabalhadoras, que financiaram esse estudo e que direta ou indiretamente possibilitaram que eu me mantesse numa universidade pública. Muito agradecida ao meu coorientador Pablo e ao parceiro Egon Horak por todo o conhecimento e materiais compartilhados, permitindo que esse trabalho tomasse forma e grandeza. Um agradecimento especial à Maria, que me acolheu há 7 anos e foi e é uma inspiração de mulher e micóloga pra mim. Gratidão pela amizade e parceria durante esses anos, Maria! Esse trabalho é mérito nosso.

Cada uma de vocês, que em mim deixaram rastros e aprendizados, foram essenciais pra eu ter chegado até aqui. Andarilhas e guerreiras que somos, continuemos a trilhar o caminho.



## RESUMO

*Phyllobolites* (Boletaceae) é caracterizado por apresentar basidiomas agaricoides-gonfoides robustos, lamelas decurrentes, basidiósporos ornamentados e cianofílicos, himênio com gloeocistídios e trama com hifas gloeopleuras. O gênero possui apenas duas espécies com ocorrência para o Brasil, Guiana e Sri Lanka. A circunscrição morfológica do gênero se sobrepõe com a de *Gloeocantharellus* (Gomphaceae), exceto pela presença de véu parcial em *Phyllobolites*. Ambos os gêneros foram propostos por Singer na década de 40. *Gloeocantharellus* é monofilético e engloba 13 espécies com distribuição predominantemente tropical e anfi-pacífica, com ocorrência de três espécies para o Brasil. O presente trabalho propõe a sinonímia de *Gloeocantharellus* em *Phyllobolites*, bem como compreender a delimitação taxonômica do gênero e as relações interespecíficas. Foram estudados espécimes coletados em áreas de Mata Atlântica e coleções de herbários de várias regiões do mundo, a partir de análises morfológicas, ultraestruturais e moleculares (mit-*atp6*, nrITS e nucLSU). Nove espécies foram analisadas morfológicamente. Novos registros foram feitos para o mundo, incluindo *P. uitotanus* para o Brasil. A ornamentação dos basidiósporos, a presença de gloeocistídios e a conexão estrutural destes com hifas gloeopleuras se mostraram ser os caracteres mais taxonômico-informativos para *Phyllobolites*. As análises moleculares demonstraram a existência de dois clados bem sustentados e três linhagens com menor valor de sustentação. A conexão estrutural entre gloeocistídios e hifas gloeopleuras corroborou com a hipótese filogenética. As espécies brasileiras agruparam-se num clado com *P. echinosporus*. Duas espécies novas foram propostas para a Guiana e Papua Nova Guiné. *Phyllobolites* sp. 3, *Phyllobolites* sp. 4, *Phyllobolites* sp. 5 e *Phyllobolites* aff. *pallidus*, incluídos na análise molecular, possivelmente representam novos táxons para a ciência. A ampla diversidade de espécies na região neotropical, bem como as relações filogenéticas interespecíficas corroboradas por características morfológicas, reforçam a potencialidade de estudos taxonômicos com *Phyllobolites* no Brasil e no mundo.

**Palavras chave:** *Gloeocantharellus*. *Atp6*. Neotrópico. Sinonímia.





## ABSTRACT

*Phyllobolites* (Boletaceae) is characterized by presenting agaricoid-gomphoid and robust basidiomes, decurrent lamellae, cyanophilic and ornamented basidiospores, hymenial gloecystidia and tramal gloeoplerous hyphae. The genus comprises only two species that occur in Brazil, Guyana and Sri Lanka. The genus morphological circumscription overlaps with that of *Gloeocantharellus* (Gomphaceae), except for the partial veil presence in *Phyllobolites*. Both genera were proposed by Singer. *Gloeocantharellus* is monophyletic and currently includes 13 species with mostly tropical and amphi-pacific distribution, with three species occurring in Brazil. This study proposes the synonymy of *Gloeocantharellus* within *Phyllobolites*, as well as comprehending *Phyllobolites* taxonomic delimitation and its interspecific relations. Specimens collected in Atlantic Forest areas and herbaria collections were studied based on morphological, ultrastructural and molecular (mit-*atp6*, nrITS e nucLSU) analyses. Nine species were morphologically analysed. New world records were made, including *P. uitotanus* for Brazil. The most taxonomic informative characters for *Phyllobolites* are: basidiospores ornamentation, gloecystidia presence and gloecystidia structural connection with gloeoplerous hyphae. Molecular analyses showed two well supported clades and three lineages with low support value. The structural connection between gloecystidia and gloeoplerous hyphae corroborated with the phylogenetic hypothesis. Brazilian species clustered in a clade with *P. echinosporus*. Two new species were proposed to Guyana and Papua New Guinea. *Phyllobolites* sp. 3, *Phyllobolites* sp. 4, *Phyllobolites* sp. 5, and *Phyllobolites* aff. *pallidus*, included in the molecular analyses, possibly represent four new species. The wide species diversity in Neotropical region, as well as interspecific phylogenetic relations corroborated by morphological characteristics, reinforce the potential taxonomic studies with *Phyllobolites* in Brazil and in the world.

**Keywords:** *Gloeocantharellus*. *Atp6*. Neotropic. Synonymy.



## SUMÁRIO

<b>Apresentação</b> .....	13
<b>Introdução</b> .....	13
<b>Objetivos</b> .....	19
<b>Material e Métodos</b> .....	20
Amostragem e descrição morfológica.....	20
Análises filogenéticas moleculares.....	21
<b>Resultados e Discussão</b> .....	25
<i>Gloeocantharellus</i> x <i>Phyllobolites</i> .....	28
Capítulo Único – Recovery of <i>Phyllobolites</i> Singer (Gomphaceae) based on morphological and phylogenetic analyses.....	31
<b>Considerações finais</b> .....	107
<b>Referências</b> .....	109



## APRESENTAÇÃO

Este trabalho está dividido em resultados gerais e um capítulo único apresentado em forma de artigo. No capítulo único é proposta a sinonímia do gênero *Gloeocantharellus* em *Phyllobolites*, com análise morfológica e filogenética molecular das espécies. As descrições morfológicas das espécies estão em inglês porque foram escritas originalmente no formato da publicação. O objetivo é que este artigo resulte numa monografia de *Phyllobolites*.

## INTRODUÇÃO

*Phyllobolites* Singer foi proposto em 1942 classificado em Paxillaceae Lotsy. Singer (1942) designou *Phyllobolites miniatus* (Rick) Singer, com distribuição conhecida para o sul do Brasil (RS), como espécie tipo do gênero. Outras duas espécies foram incluídas no gênero para o Sri Lanka: *Phyllobolites russuloides* (Petch) Singer e *Phyllobolites lateritius* (Petch) Singer. O gênero foi caracterizado pelo píleo de cor rubra, estipe sólido e central e basidiósporos ovoides com ornamentação verrucosa a reticulada, ocre em massa. Em 1981, Singer afirmou que o holótipo de *Phyllobolites miniatus* encontrava-se perdido e designou um neótipo a partir de um espécime coletado por ele em Manaus (Amazonas, Brasil). O neótipo apresenta o basidioma agaricoide, crescendo de forma gregária no solo, com o píleo centralmente depresso e superfície avermelhada, glabra e viscosa; lamelas profundamente decurrentes, intervenosas, bifurcadas e ocre pálidas; estipe sólido, cilíndrico e de coloração pálida; presença de véu parcial, formando um anel estreito no ápice do estipe reduzido a uma linha inconspícua; esporos fusoides a ovoides, com depressão suprahilar e ornamentação verrucosa; presença de pseudocistídios versiformes com conteúdo granuloso no himênio e na estípitipelis e de hifas gloeopleuras (secretoras) na trama da lamela; e pileipelis gelatinizada. Desde a designação do neótipo de *Phyllobolites*, nenhum outro trabalho foi realizado com o gênero. *Phyllobolites miniatus* foi coletado na Guiana associado a florestas de *Dicymbe* Spruce ex Benth (Henkel et al. 2012). Trabalhos recentes com Boletales E.J. Gilbert têm considerado *Phyllobolites* em Boletaceae Chevall. (Nuhn et al. 2013; Roy et al. 2016), porém sem inclusão do gênero nas análises morfológicas e filogenéticas.

Exceto pela presença de véu parcial no basidioma, todas as outras características morfológicas são diagnósticas também de *Gloeocantharellus* Singer (Gomphaceae Donk), que possui espécies de morfologia similar a *Phyllobolites*. *Gloeocantharellus* foi proposto por Singer (1945) ao revisar o holótipo de *Cantharellus purpurascens* Hesler e observar a presença de gloeocistídios, basidiósporos verrucosos e lamelas com reticulações intervenosas, características atípicas em *Cantharellus* Adans. ex Fr. *Gloeocantharellus purpurascens* (Hesler) Singer foi designada como a espécie tipo do gênero. Além disso, características morfológicas como o basidioma agaricoide-gonfoide, lamelas decurrentes, basidiósporos com a parede ornamentada e presença de gloeocistídios e hifas gloeopleuras são típicas de *Gloeocantharellus*. Singer (1945) considerou *Gloeocantharellus* como um gênero morfológicamente intermediário entre *Cantharellus* e *Gomphus* Pers., por possuir características morfológicas de ambos os gêneros. Singer nunca mencionou *Phyllobolites* como estando relacionado a esses gêneros, apesar das similaridades morfológicas entre eles.

Corner (1969), em seu trabalho com fungos cantareloides, fez uma revisão taxonômica de *Gloeocantharellus*, abordando e discutindo características morfológicas e relações filogenéticas com gêneros próximos morfológicamente. A presença de gloeocistídios e hifas oleíferas é discutida pelo autor em uma perspectiva evolutiva que compara *Gloeocantharellus*, *Gomphus* e *Paxillus* Fr. a partir desse caráter. Corner sugere que, evolutivamente, o desenvolvimento himenial em *Gloeocantharellus* se deu primeiramente com a presença somente de hifas oleíferas na trama do himenóforo, como condição ancestral, e posteriormente formando gloeocistídios himeniais. *Gloeocantharellus okapaensis* (Corner) Corner representaria uma condição intermediária, segundo Corner, com a presença de hifas oleíferas na trama do himenóforo projetando-se no himênio, com pouca ou nenhuma dilatação. Corner reitera que as hifas oleíferas estão presentes em diferentes grupos de Basidiomycota, não indicando nenhum tipo de afinidade entre eles por isso. No mesmo trabalho, Corner apresentou a primeira chave de identificação para as cinco espécies de *Gloeocantharellus* reconhecidas: *G. corneri* (Singer) Corner, *G. echinosporus* Corner, *G. okapaensis*, *G. lateritius* (Petch) Corner e *G. purpurascens*, e descrições morfológicas detalhadas de cada espécie. Desde então novos estudos taxonômicos incluíram o gênero e novas espécies foram descritas, incluindo coletas do Brasil (Petersen 1971; Joseph & Manimohan 1998; Giachini 2004; Vasco-Palacios & Franco-

Molano 2005; Deng & Li 2008; Giachini & Castellano 2011; Linhares et al. 2016; Wartchow et al. 2017).

Em 1947, Singer propôs o gênero *Linderomyces* (Gomphaceae) e transferiu *Paxillus lateritius* para o novo gênero, sem citar a sinonímia proposta em 1942 em *Phyllobolites lateritius*. Singer (1947) sustenta a proposição de *Linderomyces* pela presença de elementos condutores (hifas e cistídios) de aspecto esponjoso, denominando-os coscinoides. Singer (1961) propôs *Linderomyces corneri*, com ocorrência para o Rio de Janeiro, apresentando as mesmas estruturas coscinoides. Posteriormente, Petersen (1968) e Corner (1969) contestaram a proposição de *Linderomyces*, afirmando que os elementos coscinoides tratavam-se de hifas oleíferas e gloeocistídios idênticos aos de *Gloeocantharellus*, propondo assim a sinonimização dos gêneros.

*Gloeocantharellus* é considerado um gênero de *Gomphus* s.l., junto com *Gomphus* Pers, *Phaeoclavulina* Brinkmann e *Turbinellus* Earle (Giachini et al. 2010). Características micromorfológicas como a abundância de hifas gloeopleuras em todo o basidioma e a presença variável de fíbulas nas hifas generativas separa *Gloeocantharellus* dos outros gêneros de *Gomphus* s.l. (Giachini & Castellano 2011). *Gloeocantharellus* e *Phyllobolites* incluem espécies com basidiomas de hábito agaricoide-gonfoide, com até 15 cm de altura, geralmente bastante robustos, podendo crescer solitários, gregários ou cespitosos, e os basidiomas de algumas espécies tornam-se roxo amarronzados ou avermelhados quando manuseados. Além disso, os basidiomas apresentam reação macroquímica em contato com sais férricos ( $\text{FeSO}_4$  e  $\text{FeCl}_3$ ), tornando-se verde escuros a pretos, reação característica dos táxons de Gomphales. Apresentam o píleo convexo quando imaturos, tornando-se plano a depresso ou infundibuliforme quando maduros, com coloração amarela a avermelhada, rosada, marrom ou esbranquiçada. O himenóforo apresenta lamelas profundamente decurrentes, com lamelas verdadeiras ou dobras enrugadas a quase liso, de cor branca a marrom. Micromorfológicamente, possuem basidiósporos que variam de 5 a 20  $\mu\text{m}$  de comprimento por 3 a 7  $\mu\text{m}$  de largura, com formato elipsoide a amigdaliforme, de parede geralmente engrossada e com ornamentação verrucosa a rugosa, aculeada em *G. aculeatus* Linhares, Daniëls & M.A. Neves e equinulada em *G. echinosporus*, e reação cianofílica. Possuem hifas generativas com ou sem fíbulas. A maioria das espécies do gênero apresenta gloeocistídios [exceto *G. mamorensis* (Singer) Giachini e *G. pallidus* (Yasuda) Giachini], cistídios caracterizados pelo formato irregular e sinuoso a subventricoso, de parede fina e com conteúdo densamente granular, amarelado e refringente (Larsen & Burdsall 1976;

Largent et al. 1977), podendo ser encontrados no himênio, na pileipelis e/ou estipitipelis. Possuem hifas gloeopleuras em abundância, as quais são conspicuas e geralmente bastante sinuosas, com conteúdo homogêneo ou densamente granular como nos gloecistídios e refringente, presentes no contexto e no micélio basal.

A partir de uma revisão de *Gomphus* s.l., Giachini & Castellano (2011) propuseram uma nova classificação taxonômica para o grupo, incluindo 11 espécies de *Gloeocantharellus*. Posteriormente, duas outras espécies foram descritas para o gênero (Linhares et al. 2016; Wartchow et al. 2017). *Gloeocantharellus* apresenta distribuição anfipacífica e predominantemente tropical, com registro nas Américas (Bolívia, Brasil, Colômbia, Estados Unidos, Guiana e México), Ásia e Oceania (China, Ilhas Salomão, Índia, Japão, Malásia, Nova Zelândia, Papua Nova Guiné, Rússia, Singapura e Sri Lanka). Das 13 espécies, três são endêmicas do Brasil, com ocorrência para o domínio da Mata Atlântica. *Gloeocantharellus corneri* (como *Linderomyces corneri*) foi descrita por Singer (1961) para a cidade do Rio de Janeiro e foi encontrada também no Paraná (Watling & De Meijer 1997). *Gloeocantharellus aculeatus* foi descrita para os estados do Espírito Santo e Santa Catarina com base em dados morfológicos e moleculares (nrITS e mit-*atp6*) (Linhares et al. 2016). *Gloeocantharellus substramineus* Wartchow foi descrita para o litoral da Paraíba, em floresta de restinga arbórea (Wartchow et al. 2017). *Phyllobolites* apresenta registro de ocorrência para o Brasil, Guiana e Sri Lanka (Rick 1906; Singer 1981; Henkel et al. 2012). No Brasil, *Phyllobolites miniatus* foi registrado para o Rio Grande do Sul e Amazônia. As espécies de *Gloeocantharellus* e *Phyllobolites* e suas respectivas ocorrências conhecidas estão listadas na Tabela 1.

Tabela 1: Espécies de *Gloeocantharellus* e *Phyllobolites* registradas para o mundo.

TÁXON	OCORRÊNCIA	REFERÊNCIAS
<i>Gloeocantharellus aculeatus</i> (Linhares, Daniëls & M.A. Neves) Linhares & M.A. Neves	Brasil (SC e ES)	Linhares et al. (2016)
<i>Gloeocantharellus corneri</i> (Singer) Linhares & M.A. Neves	Brasil (RJ e PR)	Singer (1961); Watling & de Meijer (1997)
<i>Gloeocantharellus dingleyae</i> (Segedin) Linhares & M.A. Neves	Nova Zelândia	Segedin (1984)



<i>Gloeocantharellus echinosporus</i> (Corner) Linhares & M.A. Neves	Singapura Malásia Ilhas Salomão	Corner (1969)
<i>Gloeocantharellus lateritius</i> (Petch) Singer	Sri Lanka Índia	Petch (1917); Joseph & Manimohan (1998)
<i>Gloeocantharellus mamorensis</i> (Singer) Linhares & M.A. Neves	Bolívia	Singer et al. (1983)
<i>Gloeocantharellus novae-zelandiae</i> (Segedin) Linhares & M.A. Neves	Nova Zelândia	Segedin (1984)
<i>Gloeocantharellus okapaensis</i> (Corner) Linhares & M.A. Neves	Papua Nova Guiné Ilhas Salomão	Corner (1966); Corner (1969)
<i>Gloeocantharellus pallidus</i> (Yasuda) Linhares & M.A. Neves	Japão Rússia México	Lloyd (1917); Bulakh & Govorova (2000); Villegas et al. (2010)
<i>Gloeocantharellus persicinus</i> (T.H. Li, Chun Y. Deng & L.M. Wu) Linhares & M.A. Neves	China	Deng & Li (2008)
<i>Gloeocantharellus purpurascens</i> (Hesler) Linhares & M.A. Neves	EUA México	Smith & Hesler (1943); González- Ávila et al. (2013)
<i>Gloeocantharellus substramineus</i> (Wartchow) Linhares & M.A. Neves	Brasil (PB)	Wartchow et al. (2017)
<i>Gloeocantharellus uitotanus</i> (Vasco-Pal. & Franco-Mol.) Linhares & M.A. Neves	Colômbia	Vasco-Palacios & Franco-Molano (2005)
<i>Phyllobolites miniatus</i> (Rick) Singer	Brasil (RS e AM) Guiana	Rick (1906); Singer (1942); Singer (1981); Henkel et al. (2012)
<i>Phyllobolites russuloides</i> (Petch) Singer	Sri Lanka	Petch (1909); Singer (1942)

A maioria dos trabalhos envolvendo filogenia molecular que incluem materiais de *Gloeocantharellus* tiveram como finalidade compreender as relações filogenéticas a níveis taxonômicos de ordem e gênero, utilizando os marcadores moleculares nuLSU, mitSSU, nucSSU, mit-*atp6*, RPB2 e *tef-1 $\alpha$*  (Pine et al. 1999; Hosaka et al. 2006; Giachini et al. 2010). Pine et al. (1999) inferiram relações filogenéticas de fungos cantarelóides e clavarióides, incluindo no estudo *Gloeocantharellus purpurascens* como o único táxon de Gomphaceae com lamelas verdadeiras. A espécie agrupou-se no clado “gomphoid-phalloid” com *Gomphus* e *Ramaria* indicando, segundo os autores, que *Gloeocantharellus* representa uma derivação independente de lamelas dentro da linhagem “gomphoid-phalloid”. Todavia, o clado foi representado por uma baixa amostragem de táxons e somente materiais da América do Norte foram incluídos, podendo resultar em inferências que não representam a real história filogenética, principalmente em um grupo com táxons com ampla diversidade morfológica. Giachini et al. (2010) propuseram uma reconstrução filogenética da linhagem “gomphoid-phalloid” utilizando marcadores nucleares e mitocondriais, na qual *Gomphus* s.l. formou uma linhagem parafilética, composta por *Gomphus*, *Gloeocantharellus*, *Phaeoclavulina* e *Turbinellus*. A análise filogenética proposta indica o monofiletismo de *Gloeocantharellus*, incluindo cinco espécies do gênero no trabalho.

Com o avanço das técnicas moleculares nas últimas décadas e o seu uso como uma ferramenta para elucidar as relações filogenéticas entre os diversos grupos de fungos, a relação entre os táxons de *Gomphus* s.l. vêm sendo elucidada. Contudo, apesar da localização e das relações de *Gloeocantharellus* estarem bem sustentadas no clado “gomphoid-phalloid”, faltam estudos mais aprofundados e focados nas espécies do gênero, incluindo dados moleculares. Ainda, os trabalhos de Singer com *Phyllobolites* e *Gloeocantharellus* (Singer 1942; 1945; 1947; 1961; 1981) criaram ambiguidades de modo que a circunscrição morfológica dos gêneros se sobrepõe, apesar de pertencerem a ordens diferentes. A delimitação dos gêneros é incerta e a relação entre eles mal resolvida, tornando-se necessária uma revisão taxonômica destes. O estudo taxonômico detalhado de *Gloeocantharellus* e *Phyllobolites* a partir de dados morfológicos em conjunto com dados de distribuição e filogenéticos moleculares possivelmente acarretará numa delimitação mais acurada das espécies e um melhor entendimento das relações interespecíficas.

## OBJETIVOS

### Objetivo Geral

Contribuir para o conhecimento de *Phyllobolites* a partir de análises morfológicas e moleculares, a fim de entender a delimitação taxonômica do gênero, sua relação com *Gloeocantharellus* e suas relações interespecíficas.

### Objetivos Específicos

- Fazer uma análise morfológica detalhada dos espécimes de *Gloeocantharellus* e *Phyllobolites* coletados e de coleções de herbários;
- Fazer uma análise filogenética molecular das espécies do gênero a partir de sequências das regiões mit-*atp6*, nrITS e nucLSU;
- Gerar resultados taxonômicos e filogenéticos que auxiliem na delimitação destes táxons;
- Propor uma circunscrição taxonômica adequada para os táxons.

## MATERIAL E MÉTODOS

Foram realizadas análises morfológicas macro e microscópicas e ultraestruturais, bem como análises moleculares filogenéticas utilizando três regiões do DNA nuclear e mitocondrial de espécimes previamente identificados como *Gloeocantharellus* e *Phyllobolites* coletados em áreas do domínio Mata Atlântica e de coleções de herbários de diversas regiões do mundo.

### Amostragem e descrição morfológica

Foram realizadas saídas a campo para coletas de espécimes entre janeiro e maio de 2016 e dezembro de 2016 a abril de 2017, em Parques e Unidades de Conservação (UCs) do domínio Mata Atlântica da região sul e sudeste do Brasil, nos estados do Espírito Santo, Paraná, Rio de Janeiro, Santa Catarina e São Paulo. As autorizações dos órgãos federais responsáveis pelas UCs foram solicitadas e concedidas com antecedência às coletas. Também foram incluídos nesse trabalho espécimes coletados por colegas e outros pesquisadores.

Foram solicitados empréstimos de materiais de *Gloeocantharellus* e *Phyllobolites* dos herbários CGE, F, FH, FLOR, HUA, INPA, MEL, PDD, PERTH, R e ZT (acrônimos de acordo com Thiers, atualizado continuamente). Foram realizadas análises micromorfológicas e moleculares destes materiais seguindo a metodologia aqui citada.

Em campo, foram observadas características ecológicas relacionadas aos espécimes a serem coletados, bem como registros fotográficos destes. Os basidiomas foram coletados com auxílio de um canivete e acondicionados em caixas plásticas com divisórias. Os espécimes foram descritos macroscopicamente a partir de características do basidioma fresco utilizando-se métodos tradicionais de descrição de cogumelos (Largent 1986) e os guias de cores *Online Auction Color Chart* (Kramer 2004) e Kornerup & Wanscher (1983). Um fragmento do himenóforo dos materiais frescos foi acondicionado na presença de sílica para preservação do DNA para os estudos moleculares. Os espécimes foram desidratados em uma desidratadora a 40°C por aproximadamente 24 horas ou até a completa desidratação do material. Após desidratados, os espécimes foram acondicionados em sacos plásticos hermeticamente vedados e etiquetados com o número de coletor. Posteriormente, os materiais foram mantidos por um período de sete dias em um refrigerador com temperatura de -80°C para eliminar

possíveis ovos e larvas de insetos que possam ter resistido à desidratação. Os espécimes foram depositados no herbário FLOR do Departamento de Botânica da UFSC.

A análise e descrição das estruturas microscópicas dos materiais, realizadas no Laboratório de Micologia da UFSC, foram feitas a partir de cortes à mão livre de seções transversais às lamelas para observação das estruturas do himênio (basidiósporos, basídios e cystídios) e da trama do himenóforo, e de seções radiais do píleo e do estipe para observação da pileipelis, estipitipelis e contexto. Com auxílio de uma pinça foi retirada uma porção do micélio basal localizado na base do estipe para observação das hifas e outras estruturas. Os cortes foram hidratados com solução de KOH 3% e corados com Vermelho Congo para observação e mensuração das estruturas. As estruturas foram testadas quanto à dextrinoidia ou amiloidia com o Reagente de Melzer e quanto à cianofilia com o Azul de Algodão. Os cortes foram observados em microscopia de luz e as microestruturas foram mensuradas através do programa ImageJ (Schneider et al. 2012) a partir de imagens digitais das mesmas e com auxílio de uma régua micrométrica acoplada à ocular do microscópio, no qual foram medidos, por espécime, 30 basidiósporos e até 20 elementos de cada uma das outras estruturas. A medida do apículo e da ornamentação não foram incluídas na mensuração dos basidiósporos. O valor  $Q_m$  é a média aritmética do raio comprimento/largura e pode fornecer uma indicação do formato dos basidiósporos. As descrições seguiram a metodologia e nomenclatura de Largent et al. (1977) e Villegas et al. (2005). As ilustrações das microestruturas foram feitas à mão livre por Daniel Andres, a partir de imagens digitais dos materiais em estudo.

Com o propósito de caracterizar de maneira detalhada a ornamentação da parede dos basidiósporos, estes foram analisados em Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) no Laboratório Central de Microscopia Eletrônica da UFSC (LCME-UFSC). Para isso, foram retirados pequenos fragmentos do himenóforo dos espécimes desidratados, colocados sobre uma fita adesiva de carbono em stubs de alumínio, onde foram banhados por uma camada de 30 nm de ouro para, então, serem observados e fotografados no Microscópio a 5–10 Kev.

### **Análises filogenéticas moleculares**

Para as análises moleculares foram utilizadas sequências de DNA dos espécimes coletados e das coleções de herbários para as quais foram obtidas autorização de extração de material genético.

A extração do DNA total dos materiais foi realizada a partir de um fragmento (aprox. 10 mg) do himenóforo do material desidratado, de acordo com a metodologia proposta por Doyle & Doyle (1987) adaptada por Góes-Neto et al. (2005), utilizando o tampão CTAB 2% pré-aquecido a 65°C. Os fragmentos dos basidiomas foram macerados com auxílio de nitrogênio líquido. Os produtos da maceração foram colocados em tubos de 2 mL, no qual foram adicionados 800 µL de CTAB e mantidos em banho-maria a 65°C por um período de 45 minutos, intercalando com períodos de choque térmico a -20 °C a cada 5 minutos. Após a incubação, o extrato foi lavado com clorofórmio: álcool isoamílico (24:1), precipitado em isopropanol, lavado com etanol 100%, 80% e 70%, e ressuspensionado em 50 µL de água Milli-Q ultrapura.

Foram utilizados dados de três marcadores moleculares: a região *mit-atp6* (*primers atp6-3* e *atp6-2*; Kretzer & Bruns 1999) do DNA mitocondrial e as regiões nrITS (*primers ITS8F* e *ITS6R*; Dentinger et al. 2010) e nuLSU (*primers LR0R* e *LR5*; Moncalvo et al. 2000) do DNA nuclear ribossômico. As amplificações foram realizadas utilizando o mix da marca ABM<sup>®</sup>, com 15 µL do mix, 3µL de água Milli-Q ultrapura e 1 µL de cada primer a 10 pmol por amostra. Para cada amostra foi utilizado 5 µL do DNA total diluído em água Milli-Q numa concentração de 1:10. Os termociclos utilizados nas amplificações de cada região estão especificados na Tabela 2. A qualidade da amplificação de cada amostra foi verificada para todos os produtos de PCR em gel de agarose 0,8% através da técnica de eletroforese. Os produtos da PCR foram purificados com PEG 20% (polietilenoglicol; Sambrook et al. 1989). Os produtos finais purificados foram encaminhados para sequenciamento parte para o Centro de Pesquisas Renné Rachou na Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz) de Belo Horizonte/MG, no âmbito do Projeto Identificação Molecular de Fungos do Brasil; e outra parte para a empresa Myleus Biotecnologia, de Belo Horizonte/MG. Os pares de primers utilizados no sequenciamento foram os mesmos utilizados na amplificação.

Tabela 1: Protocolos dos termociclos utilizados nas reações de PCR para cada região do DNA.

Regiões do DNA	Ciclos	Temperatura	Tempo
nrITS	Desnaturação inicial	95°C	2 min
		5x	95°C 60°C 72°C
	25x	95°C	30 s
		55°C	30 s
		72°C	1 min
	Extensão final	72°C	10 min
	mit- <i>atp6</i>	5x	94°C
37°C			55 s
*slow ramp até72°C (2°C/s) 72°C			1 min
30x		94°C	35 s
		45°C	55 s
		72°C	1 min
Extensão final		72°C	10 min
nuLSU	Desnaturação inicial	94°C	5 min
	36x	94°C	1 min
		50°C	1 min 20 s
		72°C	1 min 30 s
	Extensão final	72°C	10 min

As sequências geradas foram editadas manualmente através do *software* Geneious 6.1.8 (Kearse et al. 2012). As sequências finais foram utilizadas para montar três matrizes, contendo também sequências obtidas do banco de dados online GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank>; Sayers et al. 2009) e de outros pesquisadores. Todas as sequências geradas no presente trabalho serão depositadas no mesmo banco de dados. As matrizes finais foram alinhadas utilizando o *software* MAFFT v7 (Katoh & Standley 2013) com as estratégias Q-INS-i para a matriz de nrITS e G-INS-i para as de *atp6* e nuLSU e corrigidas manualmente no *software* MEGA 6.06 (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).

Para reconstrução filogenética a partir das matrizes alinhadas, foram utilizados os métodos de Máxima Verossimilhança (MV) a partir

do programa RAxML v. 8.2.4 (Stamatakis 2014) e de Inferência Bayesiana (IB) a partir do programa MrBayes v. 3.2.6 (Ronquist & Huelsenbeck 2003), disponíveis na plataforma CIPRES Science Gateway (<http://www.phylo.org/>; Miller et al. 2010). As análises de MV foram realizadas utilizando o modelo GTRGAMMA, com todos os parâmetros estimados pelo programa. Para avaliar a confiabilidade dos nós, os valores de suporte foram acessados através do *bootstrap* (BS). As análises de IB foram realizadas utilizando os modelos de substituição estimados. Cada análise foi feita com 20 milhões de gerações, com duas corridas independentes, cada uma começando a partir de árvores aleatórias, com quatro cadeias correndo paralelamente, amostrando as árvores geradas a cada 1000 gerações. O valor da fase inicial de *burn-in* foi 25%, sendo que todas as árvores 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 (BPP).

Nas árvores geradas, um clado foi considerado bem sustentado se o seu valor de BS foi maior do que 70% e/ou a PP foi maior que 0,9. *Gomphus clavatus* (Pers.) Gray foi utilizado como grupo externo na matriz de nrITS e *Clavariadelphus ligula* (Schaeff.) Donk nas matrizes de mit-*atp6* e nuLSU, baseado em estudos prévios (Giachini et al. 2010; Linhares et al. 2016).

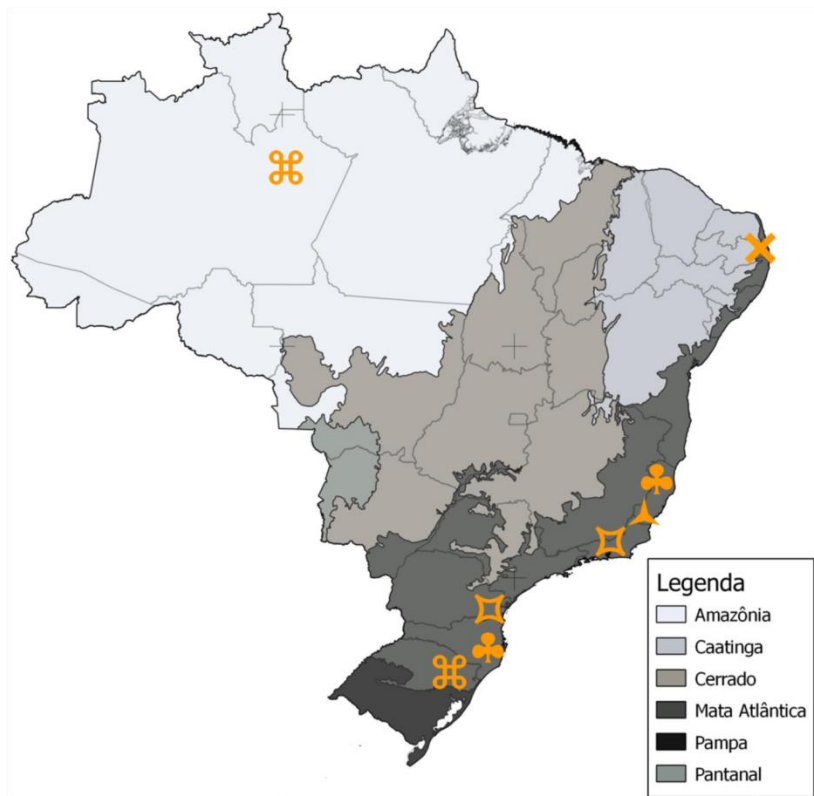
Todos os procedimentos moleculares citados, exceto o sequenciamento, foram realizados no Laboratório de Biologia Molecular do Departamento de Botânica da UFSC. As amostras resultantes dos procedimentos de extração, amplificação e purificação estão armazenadas em refrigerador a -80°C no mesmo Departamento.



## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram coletados 142 espécimes no total, em áreas de Unidade de Conservação de Mata Atlântica nos estados do Espírito Santo (11 espécimes), Paraná (20), Rio de Janeiro (59), São Paulo (32) e Santa Catarina (20). Destes, quatro espécimes foram identificados como *Gloeocantharellus*, três de *G. corneri* coletados em Piraquara (PR), e um de *G. uitotanus* coletado em Santa Teresa (ES) sendo um novo registro da espécie para o Brasil. Os outros 138 materiais coletados são espécimes de Basidiomycota de outros grupos taxonômicos. Além dos espécimes coletados, foram recebidos 43 materiais de empréstimos dos herbários CGE, F, FH, HUA, INPA, K, JPB, MEL, PDD, PERTH, R e ZT; e dois materiais coletados pelo pesquisador Pablo P. Daniëls, todos previamente identificados como *Gloeocantharellus*. Dois materiais previamente determinados como *Phyllobolites miniatus* coletados na Guiana foram recebidos como empréstimo do pesquisador Terry Henkel. Além destes, cinco espécimes de *Phyllobolites* foram coletados anteriormente ao mestrado em áreas de Mata Atlântica nos municípios de Florianópolis/SC, Piraquara/PR e Santa Teresa/ES, depositados no herbário FLOR. Os espécimes estudados possuem ampla distribuição geográfica, com materiais do continente americano (Bolívia, Brasil, Colômbia, Estados Unidos, Guiana e Porto Rico), africano (Ilhas Canárias e Togo), asiático (Singapura) e da Oceania (Ilhas Salomão, Indonésia, Malásia, Nova Zelândia e Papua Nova Guiné) (Fig. 1). Os espécimes do Brasil possuem ocorrência para o domínio Mata Atlântica de sul a nordeste do país e para a Amazônia (Fig. 2). Foram analisados neste trabalho um total de 41 espécimes previamente identificados como *Gloeocantharellus* e três como *Phyllobolites*.





**Figura 2.** Distribuição geográfica das espécies de *Phyllobolites* no Brasil baseado nos domínios vegetacionais. ♣ *Phyllobolites aculeatus*; ⌘ *Phyllobolites corneri*; ⌘ *Phyllobolites miniatus*; × *Phyllobolites substramineus*; ♣ *Phyllobolites uitotanus*.

### *Gloeocantharellus x Phyllobolites*

Na Tabela 3 são apresentadas as características morfológicas de *Gloeocantharellus* e *Phyllobolites*, a título de comparação, baseada nas análises realizadas neste trabalho.

Tabela 3: Comparação entre as características morfológicas de *Gloeocantharellus* e *Phyllobolites*.

<i>Gloeocantharellus</i>	<i>Phyllobolites</i>
<b>Basidioma</b> agaricoide-gonfoide, cresce em solo.	<b>Basidioma</b> agaricoide-gonfoide, cresce em solo.
<b>Pileo</b> 10-13.5 mm, hemisférico quando jovem, convexo a aplanado ou côncavo quando maduro, às vezes com lobos irregulares; superfície glabra a olho nu, minuciosamente tomentosa, esquamulosa ou velutínea em aumento, seca ou viscosa, cor pálida a amarela, laranja rosada, amarronzada ou vermelha.	<b>Pileo</b> 42–60 mm, convexo, depresso no centro, viscido secando rapidamente, glabro, cor vermelha.
<b>Himenóforo</b> profundamente decurrente, lamelas verdadeiras anastomosadas ou veinadas próximo ao estipe, ou em dobras himeniais; branco, creme, alaranjado ou amarronzado.	<b>Himenóforo</b> profundamente decurrente com lamelas verdadeiras, intervenosidade espalhada, furcada, cor ocre esbranquiçadas.
<b>Estipe</b> até 120 x 50 mm, central ou lateral, robusto a delgado, igual a afunilado na base, sólido ou oco; superfície glabra a velutínea, esquamulosa, pulverulenta, tomentosa ou fibrilosa, branca, amarelo pálido, alaranjado, rosado ou avermelhado.	<b>Estipe</b> 60–73 x 12–15 mm, cilíndrico com a base atenuada, sólido tornando-se oco, cor branca mas sobreposto principalmente no meio por castanho avermelhado, micélio basal escasso.
<b>Véu universal e véu parcial</b> ausentes.	<b>Véu universal</b> ausente; <b>véu parcial</b> presente, formando um anel estreito no ápice do estipe, anel branco a concolor com o estipe, facilmente negligenciado.

**Basidiósporos** 5.5–19.5 x 3–7  $\mu\text{m}$  ( $Q_m = 1.35\text{--}2.34$ ), amplamente elipsoides a fusiformes, parede grossa, inamiloides a levemente dextrinoides; ornamentação verrucosa a rugosa, eventualmente anastomosando, ou aculeada ou equinulada, cianofílica; depressão suprahilar pode estar presente.

**Basídios** 24–77 x 5–16  $\mu\text{m}$ , subclavados a clavados, 2-4 esterigmas de até 10  $\mu\text{m}$  comp.

**Gloeocistídios** quando presentes até 160 x 12  $\mu\text{m}$ , pleuro e queilocistídios, versiformes a lanceolados ou subventricosos, frequentemente sinuosos em direção à base, ápice obtuso a atenuado, parede fina, conteúdo homogêneo e hialino quando jovem, refringente e amarelo amarronzado quando maduro; conectados ou não às hifas gloeopleuras da trama.

**Hifas gloeopleuras** geralmente abundantes e conspícuas, sinuosas, frequentemente ramificadas, parede fina, aseptadas, conteúdo homogêneo e hialino ou amarelo amarronzado e granular.

**Trama da lamela** gelatinizada ou não, com o estrato médio conspícuo e bem desenvolvido; hifas gloeopleuras infreqüentes a abundantes.

**Pileipelis e Estipitipelis** como cutis ou tricoderme, com hifas de parede fina a levemente grossa; hifas gloeopleuras presentes ou ausentes; pileocistídios e caulocistídios presentes ou ausentes.

**Basidiósporos** 9.5–14.0 x 4.0–6.5  $\mu\text{m}$  ( $Q_m = 2.18$ ), estreitamente elipsoides a fusiformes, parede grossa inamiloides; ornamentação irregularmente verrucosa anastomosada, cianofílica.

**Basídios** 33–50 x 5.5–9  $\mu\text{m}$ , 2-4 esterigmas.

**Gloeocistídios** 42–108 x 4.5–7.5  $\mu\text{m}$ , pleuro e queilocistídios, abundantes, versiformes a lanceolados, sinuosos em direção à base, ápice obtuso, parede fina, conteúdo homogêneo e hialino quando jovem, refringente e amarelo amarronzado quando maduro; às vezes conectados às hifas gloeopleuras da trama.

**Hifas gloeopleuras** 3–9.5  $\mu\text{m}$  diam., sinuosas, frequentemente ramificadas, parede fina, aseptadas, conteúdo homogêneo e hialino ou amarelo amarronzado e granular.

**Trama da lamela** gelatinizada, estrato lateral com hifas entrelaçadas e estrato médio com hifas subparalelas; hifas gloeopleuras abundantes.

**Pileipelis** como ixocutis, com hifas entrelaçadas de parede fina. **Estipitipelis** como cutis, com hifas entrelaçadas de parede fina; caulocistídios como gloeocistídios.

**Trama do píleo e do estipe** com hifas paralelas a entrelaçadas, parede fina a engrossada; hifas gloeopleuras presentes ou escassas.

**Micélio basal** composto por hifas generativas, hifas gloeopleuras e ocasionais cistos amorfos a globosos, conectados às hifas gloeopleuras, com conteúdo granular.

**Trama do píleo** com hifas entrelaçadas, subparalelas próximo ao himênio, parede fina. **Trama do estipe** com hifas paralelas, parede fina; algumas hifas gloeopleuras com conteúdo granular.

**Micélio basal** composto por hifas generativas densamente entrelaçadas, parede fina a levemente grossa; ocasionais hifas gloeopleuras espalhadas, com conteúdo granular.

**CAPÍTULO ÚNICO** – Recovery of *Phyllobolites* Singer  
(Gomphaceae) based on morphological and phylogenetic analyses

## Recovery of *Phyllobolites* Singer (Gomphaceae) based on morphological and phylogenetic analyses

FERNANDA T.F. LINHARES<sup>1</sup>, PABLO P. DANIËLS<sup>2</sup>, EGON HORAK<sup>3</sup>, MARIA ALICE NEVES<sup>1</sup>

<sup>1</sup>PPG Biologia de Fungos, Algas e Plantas, Departamento de Botânica, Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Santa Catarina, Campus Universitário Trindade, CEP 88040-900, Florianópolis, Santa Catarina, Brazil.

<sup>2</sup>Department of Botany, Ecology and Plant Physiology, Ed. Celestino Mutis, 3d floor. Rabanales Campus, University of Córdoba. 14071, Córdoba, Spain.

<sup>3</sup>Schlossfeld 17, AT-6020 Innsbruck, Austria

### Introdução

*Phyllobolites* Singer foi proposto em 1942 dentro de Paxillaceae. Singer (1942) designou *Phyllobolites miniatus* (Rick) Singer, com distribuição conhecida para o sul do Brasil (RS), como espécie tipo do gênero, incluindo também *Phyllobolites russuloides* (Petch) Singer e *Phyllobolites lateritius* (Petch) Singer com ocorrência para o Sri Lanka. O gênero foi caracterizado pelo píleo de cor rubra, estipe sólido e central e basidiósporos ovóides com ornamentação verrucosa a reticulada, ocre em massa. Em 1981, Singer afirmou que o holótipo de *Phyllobolites miniatus* encontrava-se perdido e designou um neótipo a partir de um espécime coletado por ele em Manaus (AM). O neótipo proposto por Singer (1981) apresenta basidiomas agaricóides-gonfóides, crescendo no solo; píleo avermelhado com a superfície glabra e viscosa; lamelas decurrentes; estipe cilíndrico, sólido e de coloração pálida; presença de véu parcial formando um anel inconspícuo; basidiósporos fusóides a ovóides com ornamentação verrucosa; presença de pseudocistídios no himênio e na estipitipelis, e hifas gloeopleuras na trama da lamela. *Phyllobolites lateritius* foi proposto a partir de *Paxillus lateritius* Petch (Singer 1942). Porém, o próprio Singer propôs, em 1947, *Linderomyces lateritius* a partir do mesmo espécime de *Paxillus lateritius*, sem citar *Phyllobolites*. Em 1969, Corner transferiu *Linderomyces lateritius* para *Gloeocantharellus*. Trabalhos recentes com Boletales tem considerado *Phyllobolites* dentro de Boletaceae, porém sem inclusão do gênero nas análises morfológicas e filogenéticas (Nuhn et al. 2013; Roy et al. 2016).



Exceto pela presença de véu parcial no basidioma, todas as outras características morfológicas são diagnósticas também de *Gloeocantharellus* Singer (Gomphaceae), que possui espécies de morfologia similar a *Phyllobolites*. *Gloeocantharellus* (Gomphaceae) foi proposto por Singer (1945), que baseou o gênero pela presença de gloeocistídios, basidiósporos verrucosos e lamelas com reticulações intervenosas, e designou *Gloeocantharellus purpurascens* (Hesler) Singer como espécie tipo. Além disso, a presença de basidiomas com hábito agaricoide-gonfoide, lamelas decurrentes, basidiósporos com a parede ornamentada e presença de gloeocistídios e hifas gloeopleuras também são típicas do gênero.

Apesar das características compartilhadas, Singer nunca mencionou a semelhança morfológica entre *Phyllobolites* e *Gloeocantharellus*. Desde a designação do neótipo de *Phyllobolites*, nenhum outro trabalho foi realizado com o gênero. Os trabalhos de Singer com *Phyllobolites* e *Gloeocantharellus* (Singer 1942, 1945, 1947, 1961, 1981) criaram ambiguidades de modo que as circunscrições morfológicas dos gêneros se sobrepõem, apesar de pertencerem a ordens diferentes.

O presente trabalho propõe a sinonímia de *Gloeocantharellus* em *Phyllobolites* a partir de evidências morfológicas e moleculares, com análises detalhadas das espécies e verificação das relações interespecíficas, e a transferência de *Phyllobolites* para Gomphaceae.

## Material e Métodos

*Coleções e dados morfológicos:* Foram realizadas expedições para coleta de espécimes de *Phyllobolites* durante a estação chuvosa (Dezembro a Abril) no domínio Mata Atlântica nos estados brasileiros do Espírito Santo, Paraná, Rio de Janeiro e Santa Catarina. Todas as autorizações necessárias para as coletas de campo foram obtidas. Os espécimes coletados foram depositados no herbário FLOR. Foram examinados também espécimes de referência previamente identificados como *Gloeocantharellus* e *Phyllobolites* dos herbários CGE, FLOR, HUA, INPA, K, PDD e ZT (acrônimos seguem Thiers, atualizado continuamente). As análises macro e micromorfológicas foram conduzidas a partir de métodos tradicionais utilizados para descrever cogumelos (Largent 1986; Largent et al. 1977). Os códigos de cores foram baseados no *Online auction Color Chart* (Kramer 2004) e Kornerup & Wanscher (1983). Todas as observações microscópicas foram feitas usando reagente de Melzer, azul de algodão, KOH 3% e

vermelho Congo a partir de microscopia de luz (Olympus CX22LED OM). As mensurações das microestruturas foram feitas no programa ImageJ (Schneider et al. 2012) a partir de imagens digitais. As medidas dos basidiósporos foram baseadas em 30 basidiósporos por espécime e não inclui o apículo e a ornamentação. As seguintes abreviações foram utilizadas para os basidiósporos: IKI- = inamiloide e indextrinoide, e  $Q_m$  = média aritmética do raio comprimento/largura. Na mensuração de algumas estruturas microscópicas 5% das medidas de cada extremidade do intervalo são dadas entre parênteses. A terminologia utilizada para o formato dos basidiósporos seguiu Stalpers (1996) e a base de dados *online* de Stalpers (<http://www.cbs.knaw.nl/russulales/>), baseadas no valor  $Q_m$  e na simetria. Para as análises de microscopia eletrônica de varredura (MEV) dos basidiósporos, foram extraídos fragmentos do himenóforo dos espécimes desidratados, montados em blocos de alumínio usando adesivos de carbono, revestidos com 30 nm de ouro, e examinados em MEV (JEOL JSM-6390LV) operando a 5-10 Kev. As análises em MEV foram realizadas no Laboratório Central de Microscopia Eletrônica da Universidade Federal de Santa Catarina (Brasil). Todos os espécimes incluídos neste trabalho estão indicados na Tabela 1.

*Extração do DNA genômico, amplificação e sequenciamento:* O DNA genômico foi extraído a partir dos espécimes desidratados seguindo o método de extração com CTAB de Doyle & Doyle (1987) adaptado por Góes-Neto et al. (2005). Os dados moleculares foram obtidos a partir de três regiões do DNA: a subunidade 6 da ATPase do DNA mitocondrial (*mit-atp6*), o espaçador interno transcrito do DNA nuclear ribossomal (*nrITS*), e a subunidade grande do DNA nuclear ribossomal (*nuLSU*). Os pares de *primer* utilizados para a amplificação destas regiões foram *atp6-3-atp6-2* (Kretzer & Bruns 1999), ITS8F–ITS6R (Dentinger et al. 2010) e LR0R–LR5 (Moncalvo et al. 2000), respectivamente. As reações de PCR foram conduzidas utilizando o mix ABM<sup>®</sup>, com 15  $\mu$ L de mix, 3  $\mu$ L de água ultrapura Milli-Q e 1  $\mu$ L de cada *primer* (10 pmol). Os parâmetros para amplificação de cada região seguiram Kretzer & Bruns para *mit-atp6*, Dentinger et al. (2010) para *nrITS* e Moncalvo et al. (2000) para *nuLSU*. Os produtos de PCR foram purificados com PEG 20% (polietilenoglicol; Sambrook et al. 1989). O sequenciamento foi realizado com BigDye, usando os mesmos pares de *primer* citados anteriormente, na Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz) e na empresa Myleus Biotechnology, ambas em Minas Gerais, Brasil. As sequências geradas foram manualmente editadas a partir do

programa Geneious 6.1.8 (Kearse et al. 2012). Todas as sequências geradas neste trabalho serão submetidas ao Genbank (Sayers et al. 2009).

*Análises filogenéticas:* Os espécimes e seus respectivos números de acesso do Genbank incluídos neste estudo estão listados na Tabela 1. Quarenta e quatro sequências de mit-*atp6*, 25 de nrITS e 34 de nuLSU obtidas do Genbank e geradas neste trabalho foram utilizadas para construir as três matrizes. As sequências de DNA foram alinhadas no programa MAFFT v7 (Katoh & Standley 2013) a partir da estratégia Q-INS-i para nrITS e G-INS-i para mit-*atp6* e nuLSU. Os alinhamentos foram manualmente examinados e ajustados através do programa MEGA 6.06 (Tamura et al. 2013). Os alinhamentos finais de mit-*atp6*, nrITS e nuLSU apresentaram um comprimento de 621, 550 e 588 caracteres, respectivamente. Os métodos de Máxima Verossimilhança (MV) e Inferência Bayesiana (IB) foram aplicados às três matrizes. A matriz de mit-*atp6* foi dividida em três partições de acordo com a posição dos códons e a matriz de nrITS em duas partições (ITS1/2 – 5.8S). O modelo de evolução dos nucleotídeos mais adequado para cada partição foi estimado pelo critério AIC (*Akaike Information Criterion*) através do programa jModelTest v2.1.6 (Darriba et al. 2012). As análises de MV foram realizadas a partir do programa RAxML v. 8.2.4 (Stamatakis 2014) disponível na plataforma *online* CIPRES *Science Gateway* (Miller et al. 2010, <http://www.phylo.org/>), utilizando o modelo GTRGAMMA, sem proporção de sítios invariáveis e com todos os parâmetros estimados pelo programa. Foi fornecido um arquivo indicando as partições das matrizes para forçar o programa RAxML a procurar modelos de evolução separados. Os valores de *bootstrap* foram obtidos a partir de pseudoreplicações multiparamétricas, permitindo o programa interromper o processo automaticamente pela opção autoMRE. As análises de IB foram conduzidas no programa MrBayes 3.2.6 (Ronquist & Huelsenbeck 2003), disponível na plataforma CIPRES (Miller et al. 2010). Cada análise foi realizada com 20 milhões de gerações, com duas corridas independentes, cada uma iniciando a partir de árvores aleatórias com quatro cadeias simultâneas independentes, amostrando as árvores geradas a cada 1000 gerações. Vinte e cinco por cento das árvores amostradas foram descartadas como *burn-in*, enquanto que todas as árvores retidas foram utilizadas para reconstruir a árvore consenso a partir da regra de maioria de 50%, assim como a probabilidade posterior (BPP) dos ramos. Um nó foi considerado fortemente sustentado se o seu valor de BS foi maior que

90% e/ou a BPP maior que 0,95, enquanto que  $90\% < BS \leq 70\%$  e/ou  $0,95 < BPP \leq 0,9$  foi considerado uma sustentação moderada. *Gomphus clavatus* (Pers.) Gray foi usada como grupo externo para a matriz de nrITS e *Clavariadelphus ligula* (Schaeff.) Donk para ambas as matrizes de mit-*atp6* e nucLSU baseado em estudos prévios (Giachini et al. 2010; Linhares et al. 2016).

**TABELA 1.** Espécimes incluídos neste trabalho e seus respectivos vouchers, localidades e números de acesso. As seqüências de *Gloeocantharellus* obtidas do Genbank já foram renomeadas como *Phyllobolites*.

Taxon	Voucher	Localidade	Análises morfológicas	Número de acesso do Genbank		
				mit- <i>atp6</i>	nrITS	nucLSU
<i>Clavariadelphus ligula</i>	OSC67068			AY574793	x	AY574650
<i>Gautieria monticola</i>	OSC65121			AY574794	x	AY574651
<i>Gautieria parksiana</i>	OSC58907			AY574795	x	AY574652
<i>Gomphus brunneus</i>	BR03419046			AY574821	x	AY574680
<i>Gomphus clavatus</i>	OSC97616			AY574807	x	AY574664
<i>Gomphus clavatus</i>	UPS			AY574808	x	AY574665
<i>Phyllobololites aculeatus</i> *	FLOR47977	Brasil (SC)	★	KU884887	KU884895	x
<i>P. aculeatus</i>	FLOR49692	Brasil (ES)	★	KU884888	KU884896	-
<i>P. aculeatus</i>	FLOR59113	Brasil (ES)	★	KU884889	KU884897	-
<i>P. corneri</i>	FLOR47978	Brasil (PR)	★	KU884890	KU884898	-

(cont.) **TABELA 1.** Espécimes incluídos neste trabalho e seus respectivos vouchers, localidades e números de acesso. As sequências de *Gloeocantharellus* obtidas do Genbank já foram renomeadas como *Phyllobolites*.

Taxon	Voucher	Localidade	Análises morfológicas	Número de acesso do Genbank		
				mit- <i>atp6</i>	nrITS	nucLSU
<i>P. corneri</i>	FTF174	Brasil (PR)	★	-	-	x
<i>P. corneri</i>	FTF176	Brasil (PR)	★	-	-	x
<i>P. dingleyae</i> *	PDD30179	Nova Zelândia	★	x	x	x
<i>P. dingleyae</i>	ZT1447	Nova Zelândia	★	x	x	x
<i>P. echinosporus</i> *	CGE16048	Singapura	★	x	x	x
<i>P. echinosporus</i>	ZT73068	Papua Nova Guiné		-	x	x
<i>P. echinosporus</i>	ZT72266	Papua Nova Guiné	★	-	-	x
<i>P. lateritius</i> **	K63156	Sri Lanka	★	x	x	x
<i>P. miniatus</i> ***	INPA82768	Brasil (AM)	★	x	x	x
<i>P. novae-zelandiae</i> *	PDD44960	Nova Zelândia	★	x	x	x

(cont.) **TABELA 1.** Espécimes incluídos neste trabalho e seus respectivos vouchers, localidades e números de acesso. As seqüências de *Gloeocantharellus* obtidas do Genbank já foram renomeadas como *Phyllobolites*.

Taxon	Voucher	Localidade	Análises morfológicas	Número de acesso do Genbank		
				mit- <i>atp6</i>	nrITS	nucLSU
<i>P. novae-zelandiae</i>	PDD96999	Nova Zelândia	★	x	KT339202	-
<i>P. novae-zelandiae</i>	ZT1101	Nova Zelândia	★	-	x	-
<i>P. novae-zelandiae</i>	ZT12576	Nova Zelândia		-	x	x
<i>P. novae-zelandiae</i>	ZT68657	Nova Zelândia		x	x	AF261547
<i>P. okapaensis</i> *	CGE16045	Papua Nova Guiné		x	-	x
<i>P. okapaensis</i>	CGE16046	Ilhas Salomão		KU884893	KU884900	-
<i>P. okapaensis</i>	ZT7135			x	x	AF261548
<i>P. pallidus</i>	BPI54917	Japão		AY574815	x	AY574673
<i>Phyllobolites</i> aff. <i>pallidus</i>	ADK4838	Togo		x	-	x
<i>P. persicinus</i> *	GDGM21480	China		x	EU118161	x

(cont.) **TABELA 1.** Espécimes incluídos neste trabalho e seus respectivos vouchers, localidades e números de acesso. As sequências de *Gloeocantharellus* obtidas do Genbank já foram renomeadas como *Phyllobolites*.

Taxon	Voucher	Localidade	Análises morfológicas	Número de acesso do Genbank		
				mit- <i>atp6</i>	nrITS	nucLSU
<i>P. purpurascens</i> *	TENN14265	Estados Unidos		AY574824	x	AY574684
<i>P. purpurascens</i>	TENN12793	Estados Unidos		x	x	AY574683
<i>P. purpurascens</i>	TENN60053	Estados Unidos		x	AY872281	x
<i>P. purpurascens</i>	TUB019102	Estados Unidos		KF147737	x	x
<i>P. purpurascens</i>	ZT3990	Estados Unidos		-	-	-
<i>P. purpurascens</i>	ZTsn	Estados Unidos		-	-	x
<i>P. purpurascens</i>	REH6904 (HUA)	Estados Unidos		KU884894	KU884901	x
<i>Phyllobolites</i> sp.	OSC122875			DQ218903	x	DQ218617
<i>Phyllobolites</i> sp3	ZT1979a	Nova Zelândia		-	x	x
<i>Phyllobolites</i> sp3	ZT1979b	Nova Zelândia		-	x	x



(cont.) **TABELA 1.** Espécimes incluídos neste trabalho e seus respectivos vouchers, localidades e números de acesso. As sequências de *Gloeocantharellus* obtidas do Genbank já foram renomeadas como *Phyllobolites*.

Taxon	Voucher	Localidade	Análises morfológicas	Número de acesso do Genbank		
				mit- <i>atp6</i>	nrITS	nucLSU
<i>Phyllobolites</i> sp3	ZT7453	Papua Nova Guiné		-	-	x
<i>Phyllobolites</i> sp4	ZT73291	Papua Nova Guiné		-	x	x
<i>Phyllobolites</i> sp4	ZT72473	Papua Nova Guiné		-	x	x
<i>Phyllobolites</i> sp4	ZT7041	Indonésia		-	-	-
<i>Phyllobolites</i> sp5	ZT9967	Porto Rico		x	-	-
<i>Phyllobolites</i> sp. nov. 1*	TH8016	Guiana	★	x	-	-
<i>Phyllobolites</i> sp. nov. 1	TH8525	Guiana	★	-	KT339202	-
<i>Phyllobolites</i> sp. nov. 2	PERTH4549	Papua Nova Guiné		AY574810	x	AY574667
<i>P. uitotanus</i> *	AMV376 (HUA)	Colômbia	★	-	x	x
<i>P. uitotanus</i>	FLOR59112	Brasil (ES)	★	-	-	-

(cont.) **TABELA 1.** Espécimes incluídos neste trabalho e seus respectivos vouchers, localidades e números de acesso. As sequências de *Gloeocantharellus* obtidas do Genbank já foram renomeadas como *Phyllobolites*.

Taxon	Voucher	Localidade	Análises morfológicas	Número de acesso do Genbank		
				mit- <i>atp6</i>	nrITS	nucLSU
<i>Turbinellus floccosus</i>	TENN33233			AY574800	x	AY574657
<i>Turbinellus floccosus</i>	MICH5588			AY574803	x	AY574660
<i>Turbinellus fujisanensis</i> *	OSA-MY1842			AY574811	x	AY574669
<i>Turbinellus fujisanensis</i>	OSA-MY1841			AY574812	x	AY574670
<i>Turbinellus kauffmanii</i> *	MICH10069			AY574813	x	AY574671
<i>Turbinellus kauffmanii</i>	OSC97590			AY574814	x	AY574672

\* Holótipos; \*\* Lectótipos; \*\*\* Neótipos; ★ Espécimes estudados morfológicamente; - Número do Genbank a ser gerado antes da submissão; x Sem sequência.

## Resultados e Discussão

### Sinonimização de *Gloeocantharellus* em *Phyllobolites*

*Phyllobolites* foi proposto por Singer (1942) com uma diagnose muito vaga para o gênero. Das três espécies incluídas no gênero pelo autor, *P. lateritius* foi realocada para *Gloeocantharellus* por Corner (1969) e *P. russuloides* não foi estudada desde então. Tanto que Singer (1986), ao descrever o gênero, afirma que ele é monoespecífico, representado apenas pelo tipo *P. miniatus*. Além de tudo, o holótipo de *P. miniatus* foi perdido e Singer (1981) designou um neótipo, baseado num material coletado na Amazônia brasileira. A partir da análise do neótipo de *P. miniatus*, é nítida a grande semelhança morfológica com *Gloeocantharellus*, proposto pelo mesmo autor em 1945: cresce em solo, possui basidiomas robustos, píleo avermelhado, lamelas decurrentes, basidiósporos elipsoides a fusiformes com a parede engrossada e ornamentação verrucosa e cianofílica, gloeocistídios e hifas gloeopleuras abundantes e trama da lamela e pileipelis gelatinizadas. Contudo, Singer, além de ser o único autor que estudou *Phyllobolites*, em nenhum dos seus trabalhos cita a semelhança morfológica entre os dois gêneros. A única distinção morfológica entre *P. miniatus* e as espécies de *Gloeocantharellus* é a presença de véu parcial formando um anel inconspícuo no basidioma de *P. miniatus*. Ainda que esse seja um caráter macromorfológico relevante, é único frente à ampla diversidade de caracteres taxonômico-informativos e ao conjunto de características morfológicas que os gêneros compartilham. Apesar de não ter sido possível obter sequências de DNA de *P. miniatus* impedindo a comparação filogenética com as espécies de *Gloeocantharellus*, as semelhanças morfológicas observadas são suficientes para fundamentar a sinonimização de *Gloeocantharellus* e *Phyllobolites*. De acordo com o artigo 11.3 do Código Internacional de Nomenclatura para Algas, Fungos e Plantas (Código de Melbourne):

*“For any taxon from family to genus, inclusive, the correct name is the earliest legitimate one with the same rank, except in cases of limitation of priority by conservation (see Art. 14) or where Art. 11.7, 15, 19.4, 56, or 57 apply.”* (McNeill et al. 2012)

Em vista disso, considerando a norma do Código de prioridade do nome legítimo mais antigo, propomos a sinonimização de *Gloeocantharellus* em *Phyllobolites*.

*Phyllobolites sensu* Singer pertence a Boletales e *Gloeocantharellus sensu* Donk a Gomphales. O presente estudo propõe a transferência de *Phyllobolites* para Gomphaceae, Gomphales. Estudos prévios sustentam a posição filogenética de *Gloeocantharellus* no clado *gomphoid-phalloid* (Giachini et al. 2010) e as características morfológicas de *Phyllobolites* sustentam esta classificação.

### Características morfológicas

#### **Basidioma**

Os basidiomas apresentam hábito agaricoide-gonfoide, com até 16 cm de comprimento, mesopodal, pleuropodais tendendo a merismatoide em *P. novae-zelandiae* e *P. pallidus*, geralmente bastante robustos, podendo ser menores como em *P. novae-zelandiae* e *P. substramineus*. Crescem solitários, gregários ou cespitosos. Em *P. corneri*, *P. echinosporus*, *P. lateritius*, *P. okapaensis*, *P. purpurascens*, *P. uitotanus* e *Phyllobolites* sp. nov. 1 se tornam roxo amarronzados ou avermelhados quando manuseados.

#### **Píleo**

Em basidiomas jovens, o píleo é convexo, tornando-se plano a depresso ou infundibuliforme quando maduros, às vezes com lobos irregulares, petaloide em *P. pallidus*, com 1 a 13,5 cm de largura; margem inteira a subcrenada, incurvada a aplanada, podendo ser ondulada, lacerada com a maturidade em *P. dingleyae* e *P. pallidus*; superfície glabra a olho nu, minuciosamente tomentosa, esquamulosa ou velutínea em maior aumento, lisa ou fibrilosa, seca ou viscida. Apresenta coloração esbranquiçada, amarelo pálida, laranja a rosada, vermelha ou amarronzada.

#### **Himenóforo**

O himenóforo é profundamente decurrente, formado por lamelas verdadeiras ou dobras himeniais enrugadas, podendo ser anastomosadas ou veinadas em direção ao estipe. Possui coloração branca, creme, alaranjada ou marrom. Em *P. echinosporus*, rosada próximo à margem do píleo e à superfície do estipe e nas lamelas jovens.

### **Estipe**

O estipe tem até 13 cm de comprimento por 3 cm de largura, é robusto a delgado, cilíndrico, subcilíndrico a achatado, sólido ou oco, com a base igual, afunilada ou bulbosa. Possui a superfície glabra a velutínea, esquamulosa, pulverulenta, tomentosa ou fibrilosa; com coloração branca, amarelada, laranja, rosada, vermelha ou concolor ao píleo. *Phyllobolites miniatus* apresenta anel, formado a partir do véu parcial.

### **Basidiósporos**

Os basidiósporos variam entre 5,5 a 19,5 µm de comprimento por 3 a 7 µm de largura, possuem formato amplamente elipsoides, amigdaliformes a fusiformes, com coloração amarelada a amarronzada em massa e com a parede engrossada (até 1,2 µm). Possuem ornamentação com reação cianofílica, verrucosa a rugosa, podendo eventualmente anastomosar; aculeada em *P. aculeatus*; equinulada em *P. echinosporus*. Podem ser dextrinoides ou inamiloides. Muitas vezes não é possível observar a ornamentação com detalhes em microscopia de luz, o que torna ferramentas como a microscopia eletrônica de varredura crucial para uma descrição mais real da ornamentação. O apículo pode ter até 2 µm de comprimento, com ou sem depressão suprahilar, com o formato variando de obtuso, acuminado a confluyente, de acordo com a terminologia proposta por Pegler & Young (1971) e apropriada por Villegas et al. (2005) para táxons de Gomphales.

### **Gloeocistídios**

Gloeocistídios são cistídios com formato irregular (versiformes), de parede fina e com conteúdo densamente granular, amarelado e fortemente refringente (Larsen & Burdsall 1976; Largent et al. 1977). Originalmente, Singer (1945) propôs *Gloeocantharellus* primariamente pela presença de gloeocistídios, caracter que o nomeou. Contudo, atualmente não é um caráter diagnóstico de *Phyllobolites* já que nem todas as espécies conhecidas o possuem (*P. dingleyae*, *P. mamorensis*, *P. substramineus* e *P. pallidus*). Quando presentes, estão no himênio (margens e ponta da lamela), pileipelis e/ou estipitipelis. Em *P. lateritius*, *P. novae-zelandiae*, *P. okapaensis*, *P. purpurascens* e *Phyllobolites* sp. nov. 1 os gloeocistídios himenais são conectados com as hifas gloeopleuras da trama da lamela, como extensões destas. Nas outras espécies aparecem como estruturas isoladas, que por vezes podem estar conectadas às hifas gloeopleuras.

### **Hifas gloeopleuras**

Todas as espécies de *Phyllobolites* apresentam hifas gloeopleuras, geralmente abundantes, presentes esparsas entre as hifas generativas de qualquer parte do basidioma. Elas são conspícuas, com formato sinuoso, de até 10 µm de diâmetro e às vezes ramificadas. Apresentam um conteúdo fortemente refringente, podendo ser homogêneo e hialino a amarelado ou densamente granular como nos gloeocistídios.

### **Superfície do píleo do estipe**

A pileipelis e a estipitipelis apresentam hifas de parede fina a levemente engrossada, dispostas paralelamente, entrelaçadas, himeniforme ou em formato tricodermal, hialinas a alaranjadas ou avermelhadas, variando de 2,5 a 5 µm de diâmetro. *Phyllobolites aculeatus*, *P. corneri*, *P. echinosporus*, *P. miniatus*, *P. persicinus* e *P. uitotanus* apresentam pileipelis gelatinizada (ixocutis). Pileocistídios estão presentes somente em *P. purpurascens* e caulocistídios em *P. aculeatus*, *P. corneri*, *P. echinosporus*, *P. miniatus*, *P. purpurascens*, *P. uitotanus* e *Phyllobolites* sp. nov. 1. Em contato com KOH, pode tornar-se marrom avermelhada. Hifas gloeopleuras podem estar presentes ou ausentes.

### **Fíbulas**

A maioria das espécies apresentam hifas generativas fibuladas, exceto *P. dingleyae* e *P. pallidus*.

### **Micélio basal**

Micélio presente na base do estipe, caracterizado microscopicamente por um emaranhado de hifas generativas, hifas gloeopleuras e, frequentemente, cistos amorfos a globosos com conteúdo granular conectados às hifas gloeopleuras.

### **Reação macroquímica**

O basidioma das espécies de *Phyllobolites* apresenta reação macroquímica em contato com sais férricos (FeSO<sub>4</sub> e FeCl<sub>3</sub>), tornando-se verde escuro a preto. Esta reação é característica dos táxons pertencentes a Gomphales (Donk 1964; Hibbett et al. 2014).

### Taxonomia

***Phyllobolites*** Singer, *Annls mycol.* 40(1/2): 59 (1942), **emend.** Linhares & M.A. Neves

= *Gloeocantharellus* Singer, *Lloydia* 8: 140 (1945)

= *Linderomyces* Singer, *Farlowia* 3: 156 (1947)

Generitypus – *Phyllobolites miniatus* (Rick) Singer, *Annls mycol.* 40(1/2): 59. 1942

*Basidiome* up to 160 mm tall, agaricoid-gomphoid to gomphoid, mesopodal, slightly pleuropodal or merismatoid, staining purplish brown when bruised in some species. *Pileus* 10–135 mm wide, convex when young, flat to depress or infundibuliform to fan-shaped when mature, in some species petaloid or with irregular lobes; margin thin, even to subcrenate, incurved to flat, often undulate, inrolled when young, upturned in some species, lacerate with age in *P. dingleyae* and *P. pallidus*; surface glabrous to the naked eye, minutely tomentose, squamulose or velvety under 100x magnification, smooth to fibrillose, dry or viscid, off-white, pale to creamy yellow, yellow-brown, yellow-orange, salmon orange, pink, pale brown, red to reddish brown. *Hymenophore* deeply decurrent, supported by true lamellae or wrinkled hymenial folds, often anastomosed or veined toward the stipe, white, creamy yellow, pale orange, orange, brownish, in *P. echinosporus* pink to violet near the stipe surface, the pileus margin and the young lamellae. *Stipe* up to 130 x 30 mm, central to lateral, stout to slender, cylindrical, subcylindrical to flattened, solid or hollow, equal to tapering downward or bulbous; surface glabrous to velvety, squamulose, pulverulent, tomentose or fibrillose, white, pale yellow, orange-pink, pink, reddish or concolorous with the pileus; partial veil as annulus present in *P. miniatus*. *Context* pliable to somewhat firm, white, frequently bruising vinaceous or red when cut or exposed, yellow-orange when dry. *Odor* none, mild, sour or anise. *Taste* sometimes mildly bitter. *Spore print* in general brown. *Macrochemical reaction* in ferric salts ( $\text{FeSO}_4$  e  $\text{FeCl}_3$ ) becoming dark green to black.

*Basidiospores* 5.5–19.5 x 3–7  $\mu\text{m}$  ( $Q_m = 1.35\text{--}2.34$ ), broadly ellipsoid, amigdaliform to fusiform, thick-walled (up to 1.2  $\mu\text{m}$ ), yellow to brown in mass, inamiloid or slightly dextrinoid; ornamentation up to 2  $\mu\text{m}$  tall, verrucose to rugose, eventually anastomosing, aculeate in *P. aculeatus*, echinulate in *P. echinosporus*, cyanophilic; apiculus up to 2  $\mu\text{m}$  long,

obtuse, acuminate to confluent, with suprahilar depression in some species. *Basidia* (24-) 30–77 x 5–16  $\mu\text{m}$ , subclavate to clavate, hyaline, 2–4 sterigmata up to 10  $\mu\text{m}$  long, granular to multiguttulate content with age in *P. purpurascens*. *Gloeocystidia* up to 160 x 12  $\mu\text{m}$ , versiform to lanceolate or subventricose, often sinuous towards the base, with obtuse to attenuated apex, thin-walled, with homogeneous and hyaline to yellowish content when young, then with refringent yellowish brown and densely granular content when old, connected or not with gloeoplerous hyphae at trama; absent in *P. dingleyae*, *P. mamorensis* and *P. pallidus*. *Generative hyphae* with or without clamp connections. *Gloeoplerous hyphae* generally abundant and conspicuous, sinuous, often branched, thin-walled, aseptate, with homogeneous and hyaline or yellowish brown and granular content, scattered between generative hyphae. *Lamellar trama* gelatinized or not, with well-developed conspicuous mediostratum; infrequent to abundant gloeoplerous hyphae. *Pileipellis* and *stipitipellis* as a cutis or trichoderm, with hyphae thin-walled to slightly thick-walled, hyaline to pale orange or reddish, often becomes reddish brown in KOH; gloeoplerous hyphae present or absent; pileocystidia present in *P. purpurascens*; caulocystidia present or absent. *Pileus and stipe trama* with hyphae parallel to interwoven, thin-walled to thick-walled, hyaline; gloeoplerous hyphae frequent or scarce. *Basal mycelium* composed of generative hyphae, gloeoplerous hyphae and occasional amorphous to globose cysts, connected to gloeoplerous hyphae, with granular content.

Hábito, habitat e distribuição: Epígeo, terrestre; solitário, gregário ou cespitoso. É possível que faça associações ectomicorrízicas, dada as formações florestais onde o gênero ocorre. Sulzbacher et al. (2015) citam *Phyllobolites corneri* (como *Gloeocantharellus corneri*) como uma espécie potencialmente ectomicorrízica baseado em uma revisão bibliográfica, mas há dúvidas sobre o estado nutricional e a afinidade por substrato do gênero. *Phyllobolites aculeatus*, *P. corneri*, *P. miniatus* e *P. substramineus* são conhecidas apenas para as florestas tropicais e subtropicais do Brasil. *Phyllobolites dingleyae* e *P. novae-zelandiae* ocorrem nas florestas mistas de *podocarp-broadleaf* na Nova Zelândia; *P. echinosporus* em Borneu, Malásia, Singapura e Ilhas Salomão; *P. lateritius* no Sri Lanka e na Índia; *P. mamorensis* na Amazônia boliviana; *P. okapaensis* em Papua Nova Guiné e Ilhas Salomão. *Phyllobolites pallidus* é a espécie mais amplamente distribuída, ocorrendo com plantas de Myrtaceae e/ou Fagaceae no Japão, México e Rússia. *Phyllobolites persicinus* é endêmica para a China. *Phyllobolites*



*purpurascens* é conhecida para a América do Norte (México e Estados Unidos). *Phyllobolites* sp. nov. 1 ocorre sob florestas de *Dicymbe* na Guiana. *Phyllobolites* sp. nov. 2 ocorre sob árvores de *Castanopsis* and *Lithocarpus* em Papua Nova Guiné. *Phyllobolites uitotanus* ocorre na Amazônia colombiana e na Mata Atlântica brasileira.

Comentários: O hábito agaricoide-gonfoide do basidioma combinado com basidiósporos ornamentados e abundância de hifas gloeopleuras dispersas pelo contexto caracterizam *Phyllobolites*. A presença de gloeocistídios também é característica da maioria das espécies, porém não é um caráter diagnóstico do gênero.

***Phyllobolites aculeatus*** (Linhares, Daniëls & M.A. Neves) Linhares & M.A. Neves, comb. nov. (Figs. 2A, 3A e 4)

≡ *Gloeocantharellus aculeatus* Linhares, Daniëls & M.A. Neves (2016)

Mycobank #####

Tipo: BRASIL. Santa Catarina: Florianópolis, Pântano do Sul, trilha do Parque Municipal da Lagoinha do Leste, 27°46'43"S, 48°29'51"O, 04/01/2012, F.T.F. Linhares 18 (FLOR 47977) (!) (holótipo, Linhares et al. 2016: 197).

*Pileus* 35–75 mm diam., plane, sometimes with slight depression in the center, margin plane to decurved and entire; surface dry, smooth to velutinous and dark orange (OAC 756 or OAC 631) at the center, slightly fibrillose and light salmon to light orange (OAC 632 or OAC 634) towards the margin; context 1–2 mm thick, soft, spongy, white. *Lamellae* deeply decurrent, close, sometimes bifurcate and slightly intervenose, edges smooth to slightly fimbriate, pale cream (OAC 815 to OAC 816), sometimes extended to the stipe apex forming a longitudinal pinkish striae up to 12 mm long, lamellulae present. *Stipe* 50–80 × 8–17 mm, central, solid, terete to slightly compressed, equal to clavate-bulbous, base obtuse and sometimes tapered and bent; stipe surface pulverulent, cracking irregularly and exposing the context toward the base when mature, pale salmon to light orange (OAC 619 to OAC 631 or OAC 682) over the entire surface when immature, lighter salmon to lighter orange (OAC 578 to OAC 696) basally when mature; context soft, spongy, white. The basidiome staining purplish brown (OAC 526 to OAC 640) when bruised.

*Basidiospores* (8.5-) 9.0–10.5 (-11.0) × 5.0–6.0 μm ( $Q_m = 1.73$ ), ellipsoid to narrowly ellipsoid, thick-walled (up to 1 μm), hyaline to light brown in H<sub>2</sub>O, IKI-, strongly ornamented, ornamentation up to 2 μm, aculeate under the OM; ornamentation aculeate with apically rounded aculei, ventricose, sometimes somewhat tuberculate, with outgrowths eventually connected at the base, and wrinkled surface between them under SEM; cyanophilic, apiculus 1–2 μm, obtuse, hyaline. *Basidia* 45–75 × 10–16 μm, clavate, deeply tapering towards the base, hyaline, with 2–4 sterigmata up to 8 μm long. *Gloeocystidia* 43–142 × 4–12 μm, on the sides and margin of the lamellae, subventricose, cylindrical to lanceolate with obtuse or acute apex, deeply tapering and often becoming sinuous towards the base, thin-walled; with homogeneous and hyaline content when young, then with refringent yellowish brown and densely granular content when old; base inserted in subhymenium or in lamellar trama, rarely protruding above the hymenium. *Generative hyphae* clamped through all parts of the basidiome and basal mycelium. *Gloeoplerous hyphae* 2–10 μm diam., sinuous, sometimes branched, thin-walled, aseptate, with homogeneous and refringent or yellowish brown and granular content. *Lamellar trama* partially to completely gelatinized composed of hyphae 2–10 (-16) μm diam., interwoven, sometimes slightly inflated, mediostatum with subparallel hyphae and some hyaline gloeoplerous hyphae. *Pileipellis* as an ixocutis composed of hyphae 2–5 μm diam., loose, interwoven, sinuous, thin-walled, sometimes with granular content. *Pileus trama* with hyphae 4–36 μm diam., interwoven, thin-walled becoming slightly thick in some parts, often inflated, hyaline; some gloeoplerous refringent hyphae. *Stipitipellis* as a trichodermial palisade on the pulverulent portions, hyphae 3–8 μm diam., thin-walled, gloeoplerous elements present as pseudocaulocystidia. *Stipe trama* with hyphae 2.5–9 μm diam., parallel, with the wall thin to slightly thick, hyaline; some gloeoplerous hyphae present. *Basal mycelium* composed by hyphae 2–5 μm diam., interwoven, slightly thick-walled, hyaline; gloeoplerous hyphae scattered; cysts 11–20 × 8–18 μm, globose to amorphous, with granular content; sometimes bipyramidal crystals up to 1 μm wide present.

Hábito, habitat e distribuição: Solitário a disperso, às vezes forma anel de fadas. Brasil, Mata Atlântica (Espírito Santo e Santa Catarina).

Espécimes examinados: BRASIL. Santa Catarina: Florianópolis, Pântano do Sul, trilha do Parque Municipal da Lagoinha do Leste,

27°46'43"S, 48°29'51"O, 04/01/2012, F.T.F. *Linhares 18* (FLOR 47977 – holótipo); Espírito Santo: Santa Teresa, Reserva Biológica Augusto Ruschi, estrada próxima à Casa da Pedra, 19°54'19.6"S, 40°34'8.2"O, 05/12/2012, A.C. *Magnago 524* (FLOR 59113).

Comentários: *Phyllobolites aculeatus* foi descrita por Linhares et al. (2016) e é uma das três espécies conhecidas para o Brasil, com ocorrência para a Mata Atlântica. Essa espécie é macromorfológicamente caracterizada pelo píleo plano a levemente depresso de cor laranja a salmão e margem com a superfície levemente fibrilosa; lamelas cor creme que foram estrias longitudinais no ápice do estipe; e estipe com a superfície esquamulosa a pulverulenta. O basidioma torna-se marrom arroxeadado quando manuseado após alguns minutos, característica comum para o gênero. Micromorfológicamente, os basidiósporos possuem ornamentação aculeada a tuberculada com a superfície enrugada entre as projeções (esta última característica visível somente em MEV; Fig. 3A). *Phyllobolites aculeatus* é também caracterizada pelos basídios clavados que afunilam profundamente em direção à base, estipitipelis tricodermal paliçádica com caulocistídios, e gloeocistídios subventricosos a lanceolados presentes por todo o himênio. Os gloeocistídios imaturos por serem hialinos podem ser equivocadamente considerados como um outro tipo de cistídio, porém o conteúdo dos gloeocistídios mudam durante a maturação (Stalpers 1996). O padrão de ornamentação aculeado dos basidiósporos ainda não havia sido registrado para o gênero, sendo que a maioria das espécies apresenta basidiósporos com ornamentação verrucosa a rugosa.

*Phyllobolites aculeatus* é morfológicamente semelhante a *P. echinosporus*, descrita por Corner (1969). Ambas as espécies possuem basidiomas robustos, píleo rosa alaranjado, lamellas bifurcadas e levemente intervenosas de cor creme e atenuadas no ápice do estipe formando estrias, estipe rosado a amarelado com a superfície pulverulenta, basidiósporos com as mesmas dimensões, e pileipelis gelatinizada. Contudo, *P. echinosporus* apresenta basidiósporos elipsoides a subfusiformes com ornamentação equinulada. A distinção da ornamentação entre as duas espécies pode ser observada em microscopia de luz, porém é mais marcante sob MEV, onde a ornamentação em *P. echinosporus* possui o ápice pontiagudo. A distribuição das duas espécies é, também, bastante distinta, *P. echinosporus* é conhecida somente para o sudeste da Ásia e Oceania.

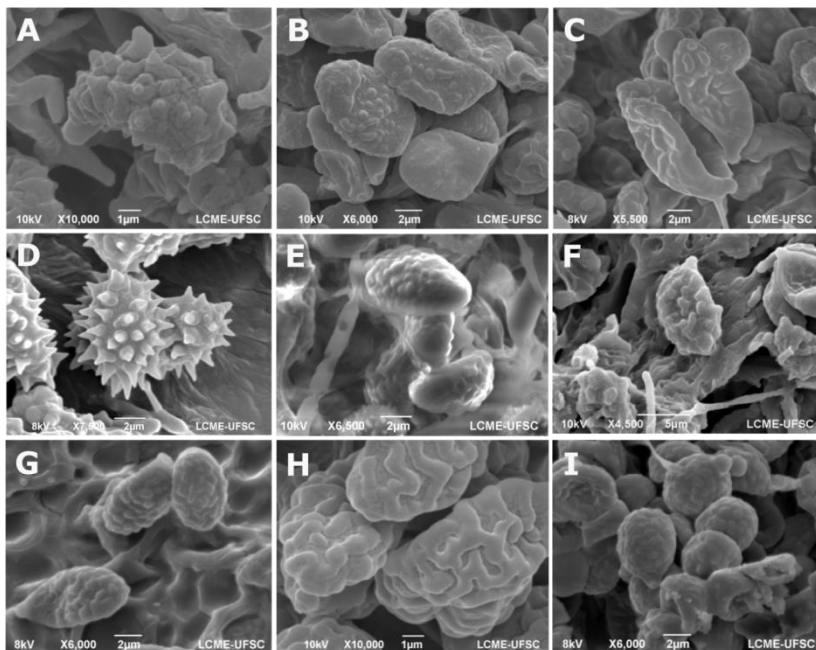
A presença de um píleo com coloração rosa alaranjada e superfície seca é frequente nas espécies de

*Phyllobolites*, como *P. dingleyae*, *P. echinosporus*, *P. okapaensis*, *P. persicinus* e *P. purpurascens*. Entretanto, todas estas espécies apresentam basidiósporos com ornamentação verrucosa a rugosa e não possuem pileipelis gelatinizada (exceto por *P. persicinus*) (Corner 1966; Corner 1969; Petersen 1971; Segedin 1984; Deng & Li 2008).

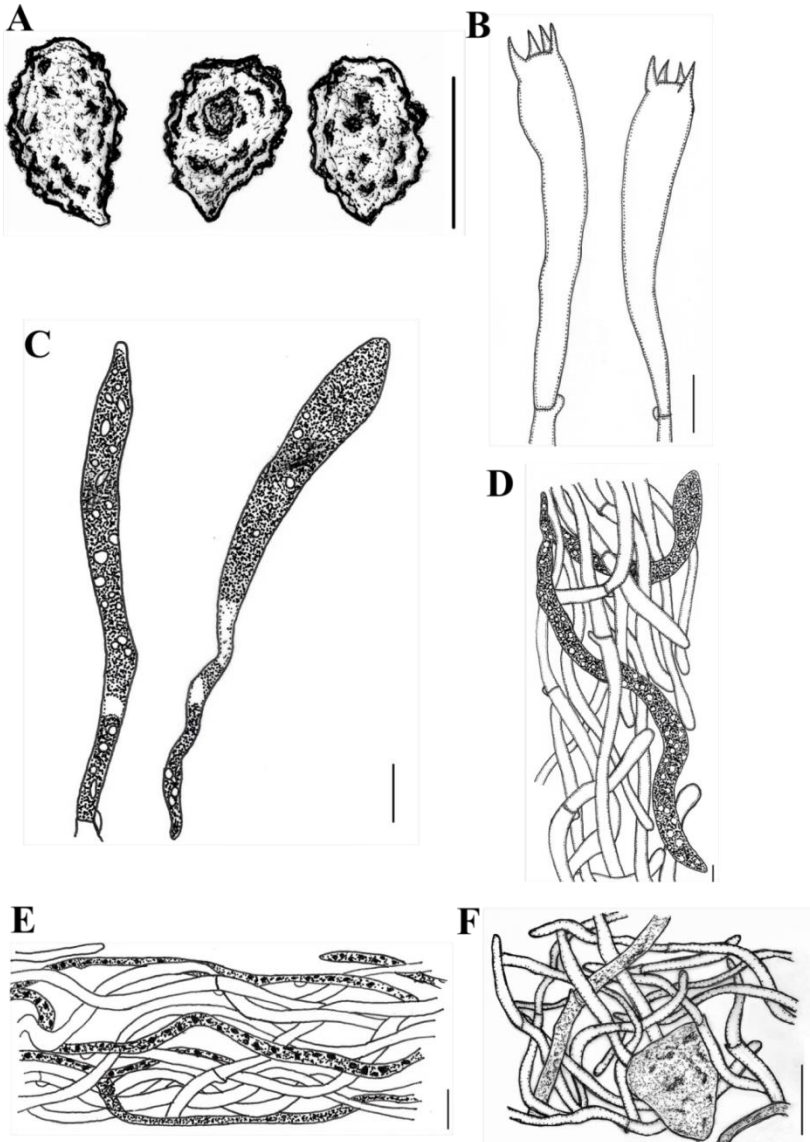
*Phyllobolites aculeatus* é uma das cinco espécies com ocorrência conhecida para o Brasil e diferencia-se das outras pela ornamentação aculeada dos basidiósporos.



**Figura 2.** Basidiomas de espécies de *Phyllobolites*. **A:** *P. aculeatus* (holótipo; por M.A. Neves); **B:** *P. corneri* (FLOR 47978; por P. Santos); **C:** *P. dingleyae* (holótipo; por PDD herbarium); **D:** *P. echinosporus* (ZT 13201); **E:** *P. miniatus* (neótipo); **F:** *P. novae-zelandiae* (ZT 68657); **G:** *P. uitotanus* (FLOR 59112; por A.C. Magnago); **H:** *Phyllobolites* sp. nov. 1 (holótipo; por T. Henkel); **I:** *Phyllobolites* sp. nov. 2 (holótipo; por Giachini 2004). Escala = 2,5 cm.



**Figura 3.** Basidiósporos (MEV). **A:** *Phyllobolites aculeatus* (holótipo); **B:** *P. corneri* (FLOR 47978); **C:** *P. dingleyae* (ZT 1447); **D:** *P. echinosporus* (ZT 72266); **E:** *P. lateritius* (isótipo); **F:** *P. miniatus* (neótipo); **G:** *P. novae-zelandiae* (ZT 1101); **H:** *P. uitotanus* (FLOR 59112); **I:** *Phyllobolites* sp. nov. 1 (holótipo).



**Figura 4.** Características microscópicas de *Phyllobolites aculeatus*. **A:** basidiósporos; **B:** basídios; **C:** gloeocistídios; **D:** estipitipelís; **E:** pileipelís; **F:** micélio basal. Escala = 10  $\mu\text{m}$ .

*Phyllobolites corneri* (Singer) Linhares & M.A. Neves, comb. nov.  
(Figs. 2B, 3B e 5)

≡ *Linderomyces corneri* Singer (1961)

≡ *Gloeocantharellus corneri* (Singer) Corner (1969)

Mycobank #####

Tipo: BRASIL. Rio de Janeiro: Guanabara, Corcovado, 500 m, 4 December 1948, *Corner 389*, (R 122774) (holótipo, Singer 1961: 14; isótipo, *Singer B 4018*, Singer 1961: 15).

*Basidiome* up to 160 mm length. *Pileus* 13–95 mm, at first convex with entire decurved margin becoming plane with the margin slightly wavy and straight with age, smooth, glabrous, slightly viscid, reddish orange (OAC 649) in the center becoming clearer toward the margin (OAC 765) when young, when mature dark orange (OAC 691) to reddish orange (OAC 649) over the entire surface. *Context* compact, firm, white. *Lamellae* strongly decurrent, subclose to close, sometimes forked, slightly wavy near the pileus edge, yellowish cream (OAC 814 to 815) to light yellow (OAC 794), lamellulae in 4–5 tiers. *Stipe* 34–130 x 9–26 mm, central, solid, tapered becoming cilindric with the base bended; surface fibrose becoming slightly squamulose downward, light orange when young becoming cream (OAC 815) with brown squamules (OAC 635). Lamellae and stipe surface becomes purplish brown (OAC 623) when bruised after a while.

*Basidiospores* (9.0-) 9.5–13.0 (-14.0) x 4.5–6.0  $\mu\text{m}$  ( $Q_m = 2.17$ ), amygdaliform to subfusiform, thick-walled (up to 1  $\mu\text{m}$ ), hyaline to light brown in  $\text{H}_2\text{O}$ , IKI-, uni or multiguttulate, ornamentation irregularly verrucose, verrucae up to 1.5  $\mu\text{m}$  comp. often connected, with obtuse apex, cyanophilic; apiculus up to 2  $\mu\text{m}$ , acuminate, with suprahilar depression. *Basidia* 30–57 x 7–12  $\mu\text{m}$ , subclavate to strongly clavate, hyaline, 2–4 sterigmata 5–7  $\mu\text{m}$  long. *Gloeocystidia* 35–94 x 4–10  $\mu\text{m}$ , on the sides and margin of the lamellae, abundant, versiform to lanceolate, deeply tapering and often becoming sinuous towards the base, apex tapered, obtuse to subacute; thin-walled becoming slightly thick in some parts; with homogeneous and hyaline content when young, then with yellowish brown and densely granular content when old; base inserted in subhymenium or in lamellar trama, protruding above the hymenium when young. *Generative hyphae* clamped through all parts of basidiome and basal mycelium. *Gloeoplerous hyphae* 2–7

µm diam., sinuous, thin-walled, aseptate, with homogeneous and refringent or yellowish brown and granular content. *Lamellar trama* convergent, mediostratum subparallel, often gelatinized; composed of hyphae 3–12 µm diam., sinuous and sometimes inflated and gloeoplerous hyphae. *Pileipellis* as a cutis tending to trichoderm constituting in a conspicuous and condensed layer over the center of the pileus, brownish in KOH, with hyphae 3–6 µm diam., interwoven, slightly thick-walled, pseudodermatocystidia as gloecystidia abundant; ixocutis as a loose and yellowish layer towards the margin of the pileus, with hyphae 2–4 µm diam., thin-walled, with refringent content, pileocystidia absent; hyaline and with scattered hyphae in immature basidiomes. *Pileus trama* with hyphae 5–15 µm diam., interwoven, tending to parallel in the pileus margin and next to the hymenium, thin-walled, hyaline, with guttulae scattered in content; some gloeoplerous hyphae scattered. *Stipitipellis* as a trichodermial palisade, tending to an interwoven cutis in some portions, reddish brown in KOH, hyphae 3–5 µm diam., with abundant caulocystidia as gloecystidia. *Stipe trama* with hyphae 3.5–6.5 µm diam., parallel, thin to slightly thick-walled, hyaline, often with guttulae scattered in content; some gloeoplerous hyphae with hyaline content. *Basal mycelium* brownish in KOH, composed of hyphae 2–4.5 µm diam., interwoven, thin-walled to slightly thick-walled, hyaline; abundant and scattered gloeoplerous hyphae, often branched, with granular content; cysts 10–30 x 8–17 µm, globose to amorphous, with granular content.

Hábito, habitat e distribuição: Solitário a disperso no solo. Brasil, Mata Atlântica (floresta ombrófila mista e densa) no Paraná e em floresta ombrófila densa no litoral da cidade do Rio de Janeiro.

Espécimes examinados: BRASIL. Paraná: Piraquara, Parque Estadual do Marumbi, Morro do Canal, 25°30'55"S 48°58'53"O, 12/11/2010, coletado por P. Santos, MAN 750 (FLOR 47978); 23/01/2016, F.T.F. *Linhares 174*; F.T.F. *Linhares 176*.

Comentários: *Phyllobolites corneri* é uma das três espécies do gênero registrada para o Brasil e com distribuição conhecida restrita ao país. A espécie foi descrita originalmente por Singer (1961) como *Linderomyces corneri* Singer, a partir de um espécime coletado por Corner em 1948 na cidade do Rio de Janeiro. Singer, a partir do material desidratado, descreveu o basidioma como sendo infundibuliforme, o píleo glabro e amarronzado com a margem levemente sulcada, lamelas bifurcadas e moderadamente grossas, e estipe sólido com uma penugem superficial. Microscopicamente, ele descreve os basidiósporos com



11.5–15 x 6.8–8.2  $\mu\text{m}$ , elipsoides a oblongos, com ornamentação irregularmente rugosa e depressão suprahilar, basídios com 27 a 40  $\mu\text{m}$  de comprimento, trama da lamela gelatinizada, pileipelis do tipo cutis com elementos gloeopleurais dispersos e estipitipelis composta por um emaranhado de elementos gloeopleurais. Corner (1969) ao revisar o holótipo, apresenta uma descrição do espécime um pouco diferente da de Singer, apresentando o píleo viscido e a margem subvilosa, basídios maiores com 60 a 80  $\mu\text{m}$  de comprimento, pileipelis gelatinizada com hifas gloeopleuras e estipitipelis como um himênio estéril.

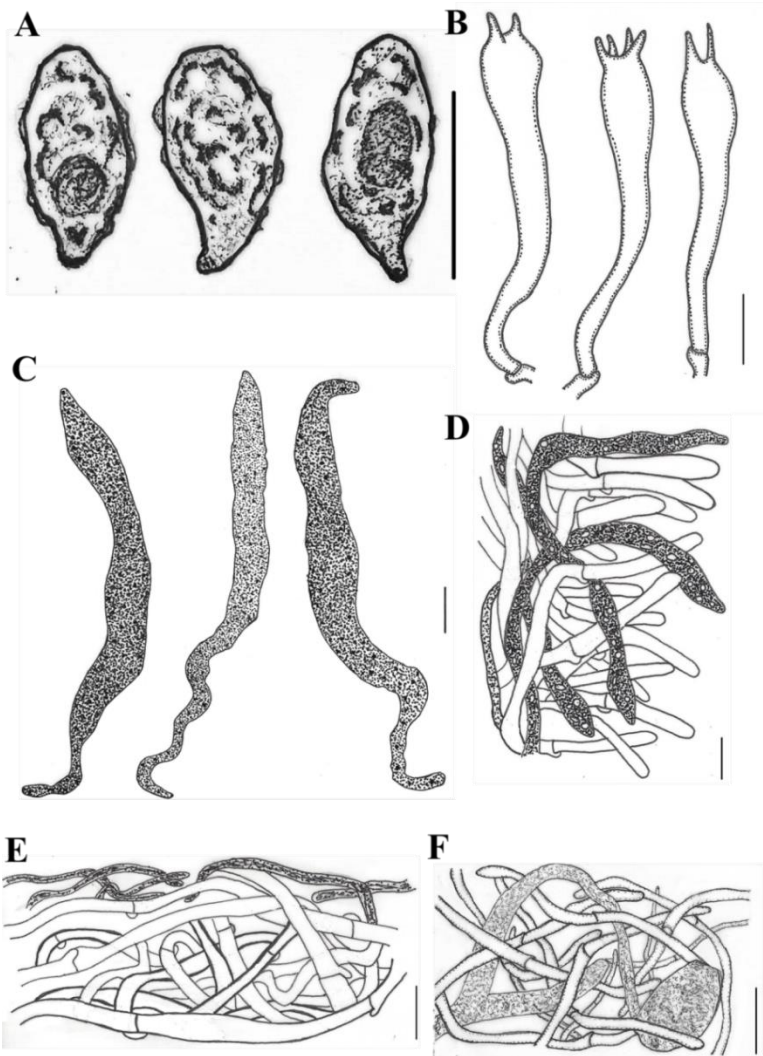
Watling & De Meijer (1997) relataram o segundo registro da espécie, no estado do Paraná, coletado no Parque Estadual do Marumbi, mesmo local de coleta dos espécimes de *P. corneri* examinados. Os autores descrevem o material com basidioma alaranjado e levemente úmido, lamelas de cor creme, bifurcadas e não intervenosas, basidiósporos 9–14 x 6–7.5  $\mu\text{m}$ , irregularmente verrucosos e com o apículo grande e proeminente, abundantes pleurocistídios e pileipelis gelatinizada com hifas com conteúdo granular.

*Phyllobolites corneri* é distinguível morfológicamente pelo basidioma grande e robusto, píleo de cor alaranjada a amarronzada, basidiósporos grandes com ornamentação irregularmente verrucosa e apículo proeminente (Fig. 3B), abundância de gloeocistídios no himênio e estipitipelis, e pileipelis variando de cutis no centro do píleo a gelatinizada na margem. Gloeocistídios são extremamente abundantes nessa espécie, sendo que os himeniais aumentam em quantidade em direção à ponta da lamela, sem diferenciação morfológica entre pleuro e queilocistídios. Além disso, aparecem como estruturas descontínuas às hifas gloeopleuras da trama.

*Phyllobolites echinosporus* e *P. persicinus* também possuem a superfície do píleo viscosa ou subviscosa. A primeira também apresenta pileipelis gelatinizada e estipitipelis tricodermal, porém difere de *P. corneri* principalmente pela coloração rosada do basidioma e pelos basidiósporos com ornamentação equinulada (Corner 1969). *Phyllobolites persicinus* possui o basidioma com coloração laranja avermelhada, esporos com ornamentação verrucosa e pileipelis gelatinizada, assim como *P. corneri*, porém apresenta basidiomas menores (até 6 cm), esporos menores (8–10 x 4–6  $\mu\text{m}$ ) e estipitipelis com hifas paralelas sem caulocistídios (Deng & Li 2008).

Não foi possível revisar os espécimes de referência de *P. corneri* citados acima, bem como não há sequências de DNA destes disponível em banco de dados público. Apesar de haver algumas distinções entre os espécimes examinados e o holótipo de *P. corneri*, estas são

majoritariamente com relação à coloração e tamanho do basidioma, consideradas aqui como uma variabilidade intraespecífica.



**Figura 5.** Características microscópicas de *Phyllobolites corneri*. **A:** basidiósporos; **B:** basídios; **C:** gloeocistídios; **D:** estipitipelis; **E:** pileipelis; **F:** micélio basal. Escala = 10  $\mu$ m.

***Phyllobolites dingleyae*** (Segedin) Linhares & M.A. Neves, comb. nov.  
(Figs. 2C, 3C e 6)

≡ *Gomphus dingleyae* Segedin (1984)

≡ *Gloeocantharellus dingleyae* (Segedin) Giachini (2011)

Mycobank #####

Tipo: NOVA ZELÂNDIA. Auckland: Estrada Waitakere, Waiatarua, 26/07/1972, J.M. Dingley (PDD 30179) (!) (holótipo, Segedin 1984: 536).

*Basidiomes* solid fleshy, 70 mm in height, mainly mesopodal (but sometimes almost pleuropodal), turbinate but becoming irregular with age, tapering from about 70 mm diam., pink- or yellow-ochraceous, plane at first, becoming depressed to deeply infunduliform with irregular lobes, dry, downy fibrillose to somewhat canescent; margin thick and undulate to deeply and irregularly lacerate. *Stipe* solid, 6–15 mm diam., irregularly grooved, concolorous, with whitish patches especially towards the base, dry, velvety. *Hymenial surface* deeply decurrent with distinct, bifurcating, broad lamellar folds which become labyrinthine towards the stipe, concolorous but darkening to deep ochraceous on drying. *Flesh* solid, ochraceous, unchanging. *Smell* not noticeable, taste bitter. *Reactions*: KOH yellowish; FeSO<sub>4</sub>, greenish black on all parts.

(Fonte: Segedin, B.P. 1984. Two new species of *Gomphus* Pers. (Aphylophorales) from New Zealand. New Zealand Journal of Botany 22: 536)

*Basidiospores* (9.0-) 9.5–14.0 x 4.0–6.5 (-7.0) μm ( $Q_m = 2.21$ ), narrowly ellipsoid to subfusiform, sometimes slightly sigmoid or rostrate with the apex tapered and prominent (up to 2.5 μm), thick-walled (up to 1 μm), hyaline in KOH, faintly dextrinoid; ornamentation irregularly verrucose, verrucae up to 1 μm length often irregularly connected forming irregular waves, cyanophilic; apiculus acuminate. *Basidia* 53–70 x 8.5–11 μm, clavate, hyaline, 2–4 sterigmata 4.5–6 μm long. *Gloeocystidia* absent. *Generative hyphae* without clamp connections. *Gloeoplerous hyphae* 2–5 μm diam., sinuous, often forms an ampulliform to versiform swellings 13–45 μm length (PDD 30179), thin-walled, with hyaline and refringent or yellowish granular content, cyanophilic. *Pileipellis* as a cutis, with hyphae 2.5–4 μm diam., closely interwoven tending to parallel, thin-walled, with occasional gloeoplerous hyphae termination from the

trama. *Pileus trama* consisting in hyphae 2–6  $\mu\text{m}$  diam., parallel to subparallel next to hymenium, slightly interwoven next to pileus surface, thin-walled, hyaline, and abundant gloeopleurous hyphae scattered. *Stipitipellis* as an ixocutis, with hyphae 1.5–2.5  $\mu\text{m}$  diam., interwoven, thin-walled, hyaline. *Stipe trama* with hyphae 1.5–4  $\mu\text{m}$  diam., parallel, thin-walled, hyaline, sometimes dilated next to sept; gloeopleurous hyphae abundant. *Basal mycelium* composed of hyphae 2.5–5.5  $\mu\text{m}$  diam., inconspicuous, interwoven, thin-walled, hyaline; gloeopleurous hyphae scattered, branched, with yellowish granular content.

Hábito, habitat e distribuição: Em serrapilheira de floresta mista de *podocarp-broadleaf* sob *Leptospermum scoparium* J.R. Forst. & G. Forst. Nova Zelândia.

Espécimes examinados: NOVA ZELÂNDIA. Auckland: Estrada Waitakere, Waiatarua, 26/07/1972, *J.M. Dingley* (PDD 30179 – holótipo); Titirangi Range, 04/1981, *J. Dingley* (ZT 1447).

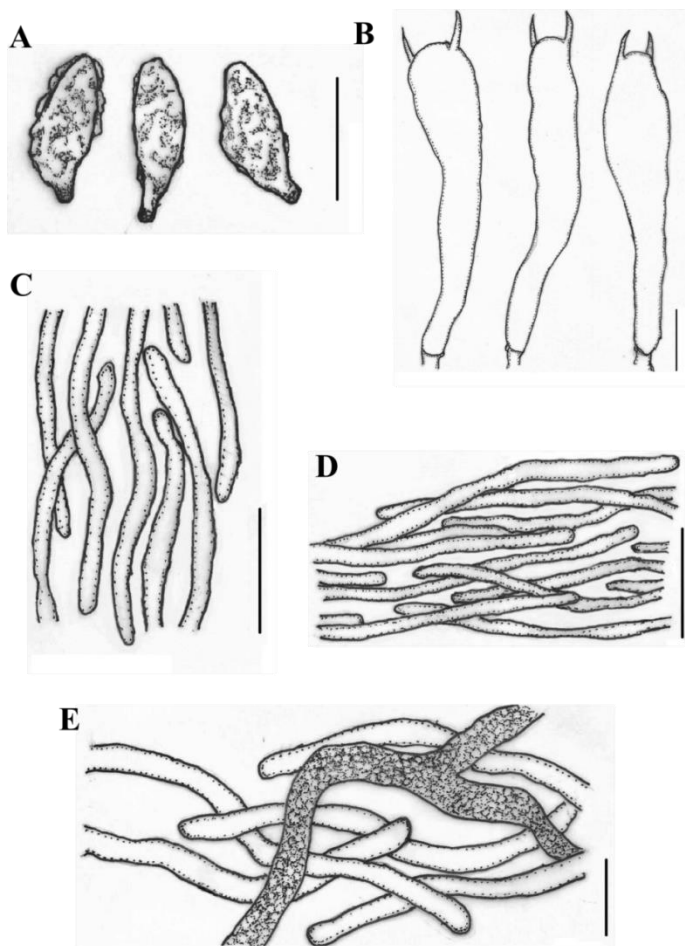
Comentários: *Phyllobolites dingleyae* foi descrita primeiramente por Segedin (1984) para Nova Zelândia. Aqui é apresentado o segundo registro da espécie para Auckland. A espécie é distinguida macroscopicamente pelo basidioma robusto, infundibuliforme e de cor ocre rosada, píleo com a margem lobada e lacerada com o tempo, e himenóforo com dobras lamelares largas. Micromorfológicamente, apresenta basidiósporos subfusiformes, por vezes rostrado com o ápice proeminente, e com ornamentação verrucosa (Fig. 3C), hifas sem fíbulas, ausência de gloeocistídios e abundância de hifas gloeopleuras que formam dilatações por todo o contexto do basidioma. A presença ocasional de basidiósporos com ápice rostrado e proeminente não havia sido registrada ainda e, a princípio, não ocorre nas outras espécies de *Phyllobolites*. Uma das características microscópicas mais marcantes de *P. dingleyae* são as dilatações ampuliformes a versiformes nas hifas gloeopleuras do contexto, podendo chegar a 45  $\mu\text{m}$  de largura. Porém, essas estruturas foram observadas somente no holótipo.

Apesar de ocorrer no mesmo habitat sob o mesmo tipo florestal da Nova Zelândia, *P. novae-zelandiae* apresenta morfologia bem distinta de *P. dingleyae*, com basidiomas menores e mais frágeis, himenóforo quase liso com lamelas superficiais, hifas fibuladas, pseudogloeocistídios himeniais, basidiósporos menores e estipitipelis himeniforme.

*Phyllobolites mamorensis*, com ocorrência conhecida para a Amazônia boliviana, também não possui gloeocistídios e a ornamentação dos basidiósporos é verrucosa anastomosada, porém produz basidiomas bem

maiores que *P. dingleyae* (até 150 mm comp.) e são esbranquiçados, com fibrilas marrons a pálidas na superfície do píleo, basidiósporos maiores ( $12\text{--}19.5 \times 3\text{--}7 \mu\text{m}$ ) e hifas fibuladas (Singer et al. 1983).

*Phyllobolites pallidus* também não apresenta gloeocistídios e fíbulas, porém macromorfológicamente é bem distinto de *P. dingleyae*, com basidiomas merismatoides de coloração creme.



**Figura 6.** Características microscópicas de *Phyllobolites dingleyae*. **A:** basidiósporos; **B:** basídios; **C:** estipitipelis; **D:** pileipelis; **E:** micélio basal. Escala = 10  $\mu\text{m}$ .

*Phyllobolites echinosporus* (Corner) Linhares & M.A. Neves, comb. nov. (Figs. 2D, 3D e 7)

≡ *Gloeocantharellus echinosporus* Corner (1969)

Mycobank #####

Tipo: SINGAPURA: Bukit Timah, 19/08/1939, *Corner s.n.* (CGE 16048) (!) (holótipo, Corner 1969: 801).

*Pileus* 4–13.5 cm, convex then plane to cyathiform, with a shining viscid pellicle, smooth but slightly innately squamulose over the centre, pale pinkish yellow to orange-pink or reddish yellow, paler and pinkish on expansion; margin incurved at first, minutely subvillous, entire. *Stem* 3–10 cm, 7–22 mm wide above, 4–10 mm below, attenuate downwards or subcylindric to the tapered base, often shortly rooting, solid, fibrous, minutely scurfy pruinose or finely villous, pallid white to pale yellowish or pale pink. *Gills* deeply decurrent, often attenuate as a line down the stem, crowded, 32–68 primaries 3–6 mm wide, 3–5 ranks but often furcate, especially near the margin, not reticulate at the base or slightly veined near the margin, thin, easily separable from the pileus, pallid clay-white or pale cream, becoming dingy yellowish fawn or somewhat olivaceous fawn. *Flesh* 9–20 mm thick in the centre of the pileus, 4–8 mm thick half-way to the margin, firm, rather felted, dry white, pinkish below the viscid pellicle, turning slightly dingy purplish when bruised, but strongly purplish on the surface of the stem, the margin of the pileus and the young gills.

(Fonte: Corner, E.J.H. 1969. Notes on cantharelloid fungi. *Nova Hedwigia*, 18: 801)

*Basidiospores* 9.0–11.5 (-13.0) x 4.0–6.0  $\mu\text{m}$  ( $Q_m = 1.98$ ), narrowly ellipsoid to amygdaliform or subfusiform, thick-walled, hyaline in KOH, IKI-; ornamentation echinulate with spines 0.5–2.0  $\mu\text{m}$  length, with acute apex, cyanophilic; apiculus 1–2  $\mu\text{m}$ , acuminate, often with suprahilar depression. *Basidia* 51–70 x 9–11  $\mu\text{m}$ , clavate, hyaline, 4 sterigmata 6–10  $\mu\text{m}$  long. *Gloeocystidia* 55–122 x 7–15  $\mu\text{m}$ , on the sides and margin of the lamellae, versiform to lanceolate, deeply sinuous, tapered at both ends, apex obtuse to subacute, thin-walled, hyaline to yellowish and without content or with yellowish brown and densely granular content; base inserted in subhymenium or lamellar trama. *Generative hyphae* clamped through all parts of basidiome and basal mycelium. *Gloeoplerous hyphae* 3–6  $\mu\text{m}$  diam., sinuous, thin-

walled, aseptate, with homogeneous and refringent content. *Lamellar trama* gelatinized with hyphae 3–12  $\mu\text{m}$  diam., parallel tending to interwoven, mediostratum often parallel; gloeoplerous hyphae scarce. *Pileipellis* as an ixocutis, hyphae 2–4  $\mu\text{m}$  diam., interwoven, thin-walled, with yellowish content; a few scattered gloeoplerous hyphal ends. *Pileus trama* with hyphae 4–16  $\mu\text{m}$  diam., interwoven, thin-walled, hyaline to yellowish in KOH. *Stipitipellis* trichodermial palisade, brownish in KOH, composed of hyphae 2–6  $\mu\text{m}$  diam., inconspicuous, thin-walled, and abundant caulocystidia as gloeocystidia, 65–128 x 9–12  $\mu\text{m}$ , lanceolate with obtuse apices, with brown densely granular content. *Stipe trama* with parallel hyphae, hyaline, and scarce gloeoplerous hyphae. *Basal mycelium* composed of hyphae 2–6  $\mu\text{m}$  diam., interwoven, thin-walled, hyaline; abundant gloeoplerous hyphae with granular content; cysts 15–22 x 12–19  $\mu\text{m}$ , globose to amorphous, with granular content like gloeoplerous hyphae.

Hábito, habitat e distribuição: No solo de floresta sob árvores de *Castanopsis* – *Lithocarpus* (ZT72266). Singapura, Malásia, Ilhas Salomão e Papua Nova Guiné.

Espécime examinados: SINGAPURA: Bukit Timah, 19/08/1939, Corner s.n. (CGE 16048 – holótipo); ILHAS SALOMÃO. Kolombangara, 23/08/1965, RSS 1028A (CGE 16041); PAPUA NOVA GUINÉ. Bulolo, Manki, 22/03/1972 (ZT 72266).

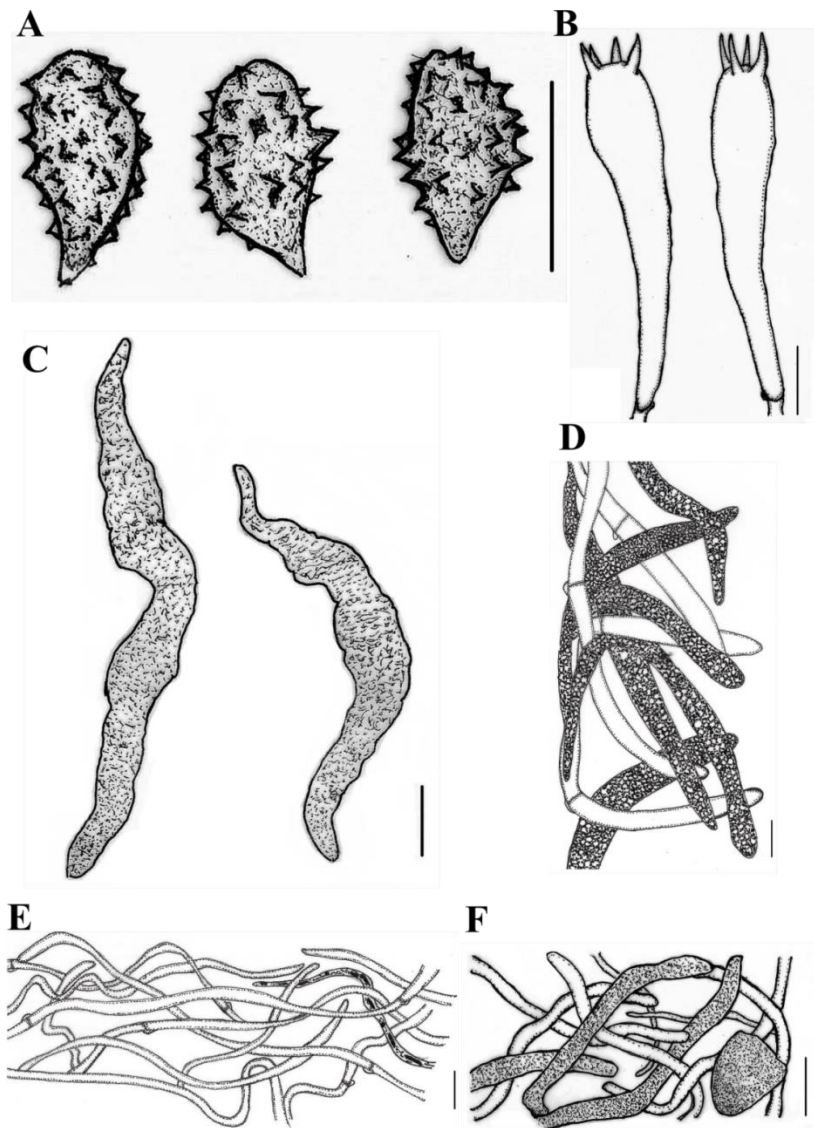
Comentários: *Phyllobolites echinosporus* foi descrita por Corner (1969) para a região sudeste da Ásia e nordeste da Oceania. É caracterizada macromorfológicamente por ter o basidioma grande e robusto, o píleo aplanado a infundibuliforme com a superfície viscosa rosa alaranjada e esquamulosa no centro, estipe sólido com a superfície pruinosa a vilosa, e lamelas verdadeiras amarronzadas, atenuadas junto ao estipe formando linhas. Além disso, todas as partes do basidioma tornam-se arroxeadas ao manuseio (Corner 1969), reação comum nas espécies do gênero. A característica diagnóstica desta espécie é a ornamentação equinulada dos basidiósporos (Fig. 3D). O padrão de ornamentação rugoso a verrucoso é característico da maioria das espécies de *Phyllobolites*, com exceção desta e *P. aculeatus*. Além dos basidiósporos com ornamentação espinhosa, micromorfológicamente *P. echinosporus* é caracterizada por gloeocistídios himeniais mais dilatados no meio (até 15  $\mu\text{m}$  de largura), hifas do contexto dilatadas, pileipellis gelatinizada e estipitipellis trichodermal quase inteiramente formada por gloeocistídios.

Corner (1969) relata a presença de um glóbulo apical no ápice dos gloeocistídios com o conteúdo granular semelhante. A estrutura,

observada algumas vezes nos espécimes analisados, trata-se na verdade do extravasamento do conteúdo dos gloeocistídios, ao estar presente nos que perderam parte dele.

*Phyllobolites aculeatus* compartilha algumas características morfológicas com *P. echinosporus*, como o basidioma robusto e rosa alaranjado, lamelas bifurcadas e levemente intervenosas de cor creme, as quais são atenuadas próximo ao estipe formando linhas, estipe com a superfície pulverulenta, basidiósporos com tamanhos semelhantes, pileipelis gelatinizada e estipitipelis tricolorada. Contudo, *P. aculeatus* possui basidiósporos elipsoides com ornamentação aculeada e ápulo obtuso e gloeocistídios himeniais não dilatados e menos sinuosos (Linhares et al. 2016). A diferenciação do padrão de ornamentação dos basidiósporos das duas espécies é mais notável sob MEV, onde as projeções são visivelmente pontudas em *P. echinosporus* e arredondadas em *P. aculeatus*.





**Figura 7.** Características microscópicas de *Phyllobolites echinosporus*. **A:** basidiósporos; **B:** basídios; **C:** gloeocistídios; **D:** estipitipelis; **E:** pileipelis; **F:** micélio basal. Escala = 10  $\mu$ m.

***Phyllobolites lateritius*** (Petch) Singer (Figs. 3E e 8)

- ≡ *Paxillus lateritius* Petch (1917)
- ≡ *Linderomyces lateritius* (Petch) Singer (1942)
- ≡ *Gomphus lateritius* (Petch) R.H. Petersen (1968)
- ≡ *Gloeocantharellus lateritius* (Petch) Corner (1969)

Mycobank: MB 289577

Tipo: SRI LANKA. Distr. Kandy, Prov. Central: Peradeniya, 1/11/1914, *T. Petch* 4230 (K 63156) (!) (lectótipo, Petch 1917: 202).

*Pileus* 5–6 cm diam., depressed to infundibuliform; surface pinkish orange to brick red, discolouring ochraceous with age; margin at first incurved, minutely tomentose, finally downcurved. *Lamellae* decurrent, arcuate, cream-coloured to yellow brown, occasionally furcate towards the stipe attachment, narrow, 2–3 mm wide, rather thick, moderately crowded. *Stipe* 4–5 x 1–1.3 cm, cylindric, expanding above, solid, surface very pale yellowish red, covered with minute, red squamules. *Context* 6–7 mm thick at the centre, white, discolouring purplish on exposure; consisting of hyaline, slightly inflated, thin-walled hyphae and very numerous, gloeoplerous hyphae, 3–6 µm diam., occasionally branching; clamp-connexions present. *Spore print* pale ochraceous. (Fonte: Pegler, D.N. 1986. *Agaric Flora of Sri Lanka*. Kew Bulletin Additional Series, 12: 456)

*Basidiospores* 9–11.5 x (5-) 5.5–7 (-7.5) µm ( $Q_m = 1.67$ ), ellipsoid to narrowly ellipsoid, often with tapered but rounded apex, thick-walled (up to 0.7 µm), hyaline in KOH, IKI-; ornamentation inconspicuous, rugose, of low, small, irregular and often anastomosed wrinkles, cyanophilic; apiculus up to 1 µm, obtuse. *Basidia* not observed. *Gloeocystidia* 68–178 x 6–10 µm, on the sides and margin of the lamellae, very abundant, versiform to lanceolate, tapering and often becoming sinuous towards the base, apex tapered and obtuse, thin-walled, refringent yellowish brown and densely granular content, sometimes connected with gloeopleurous hyphae of lamellar trama, sometimes protruding above the hymenium. *Generative hyphae* clamped through all parts of basidioma. *Gloeoplerous hyphae* de 2–7 µm diam., very abundant in lamellar trama, sinuous, thin-walled, aseptate, with yellowish brown and granular content. *Pileipellis* interwoven to trichodermial, with hyphae 3–7 µm diam., thin-walled, with refringent content; gloeoplerous hyphae abundant in subpellis. *Pileus trama* with

interwoven tending to parallel hyphae, yellowish and refringent in KOH; gloeoplerous hyphae scattered and abundant. *Stipitipellis* as a cutis, with hyphae 2.5–6  $\mu\text{m}$  diam., interwoven to parallel, loose, thin-walled to slightly thick-walled; gloeoplerous hyphae scattered and abundant. *Stipe trama* with hyphae 5–9  $\mu\text{m}$  diam., parallel, thin-walled to slightly thick-walled; gloeoplerous hyphae scattered. *Basal mycelium* not observed.

Hábito, habitat e distribuição: No solo, solitário. Sri Lanka e Índia.

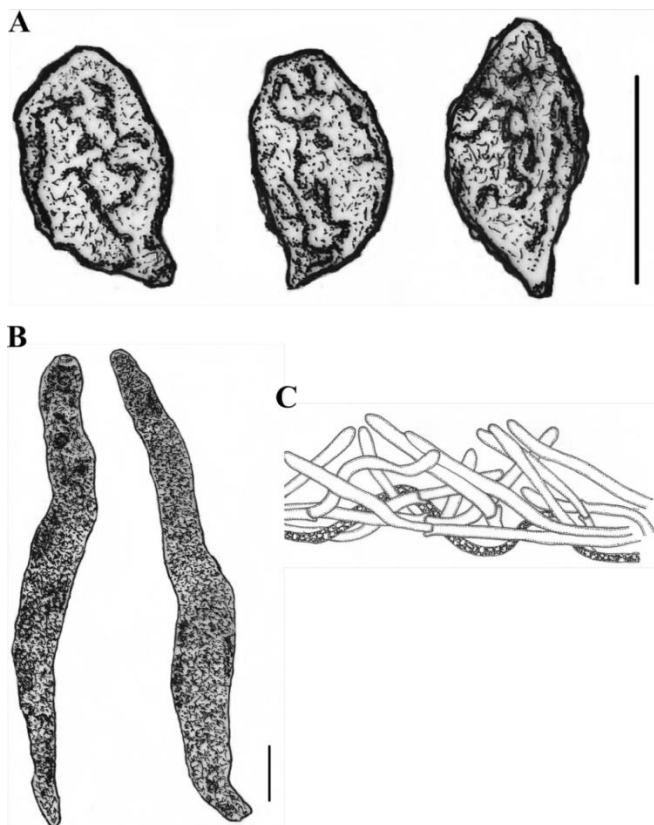
Espécimes examinados: SRI LANKA. Distr. Kandy, Prov. Central: Peradeniya, 1/11/1914, T. Petch 4230 (K 63156 – como *Paxillus lateritius* – lectótipo).

Comentários: *Phyllobolites lateritius* foi descrita primeiramente por Petch (1917) como um registro para o Sri Lanka como *Paxillus lateritius*. Petch apresentou uma descrição microscópica pouco detalhada sem qualquer comentário adicional sobre o táxon. Petersen (1971) e Pegler (1986) revisaram o tipo e apresentaram descrições micromorfológicas mais detalhadas. Joseph & Manimohan (1998) apresentaram o segundo registro da espécie, para a Índia. O espécime descrito, apesar de morfologicamente muito semelhante ao tipo, possui basídios maiores (49–68 x 7–9.5  $\mu\text{m}$  vs. 37–45 x 5–7  $\mu\text{m}$  do tipo).

A espécie é caracterizada macromorfolologicamente pelo basidioma agaricoide com coloração avermelmhada a ocre, píleo depresso a infundibuliforme com a superfície minuciosamente tomentosa, estipe sólido e coberto por pequenas esquamulas vermelhas, lamelas verdadeiras cor creme e contexto que torna-se arroxeadado ao ser exposto. Além disso, todas as partes do basidioma tornam-se marrom arroxeadas ao serem manuseadas, reação presente em outras espécies de *Phyllobolites* (*P. corneri*, *P. echinosporus*, *P. okapaensis*, *P. purpurascens*, *P. uitotanus* e *Phyllobolites* sp. nov. 1). Micromorfolologicamente, *P. lateritius* é caracterizada por basidiósporos elipsoides ocasionalmente com o ápice afunilado porém arredondado, ornamentação rugosa inconspícua e apículo obtuso (Fig. 3E), e elementos gloeopleurais extremamente abundantes por todo o basidioma, com gloecistídios no himênio e superfície do píleo e estipe, e hifas gloeopleuras por todo o contexto e trama da lamela. Com frequência, apresenta gloecistídios himenais conectados às hifas gloeopleuras da trama da lamela, como extensões destas no himênio, característica presente também em *P. novae-zelandiae*, *P. okapaensis*, *P. purpurascens* e *Phyllobolites* sp. nov. 1.

Esta espécie é morfológicamente semelhante a *P. okapaensis*, ambas tornam-se arroxeadas ao toque, possuem o píleo laranja rosado convexo a infundibuliforme com esquamulas, basidiósporos com tamanhos semelhantes e ornamentação rugosa e abundância de hifas gloeopleuras, conectadas com gloeocistídios himeniais. Contudo, *P. okapaensis* possui a superfície do estipe pruinosa, basídios triesterigmados e pileipelis com projeções lobuladas nas hifas da superfície (Corner 1969).

O material analisado (lectotipo) não está em bom estado, como já relatado por Petersen (1971), Pegler (1986) e Corner (1969), com algumas estruturas microscópicas colapsadas.



**Figura 8.** Características microscópicas de *Phyllobolites lateritius*. **A:** basidiósporos; **B:** gloeocistídios; **C:** pileipelis. Escala = 10  $\mu\text{m}$ .

*Phyllobolites miniatus* (Rick) Singer, *Annls Mycol.* 40(1/2): 59 (1942)  
(Figs. 2E, 3F e 9)

≡ *Paxillus miniatus* Rick (1906)

Mycobank: MB 289578

Tipo: BRASIL. Amazonas: estrada Manaus-Caracaráí, km 45, 20/07/1978, leg. José Lima, comm. *Singer B 11333* (INPA 82768) (!) (neótipo, Singer 1981: 507).

*Pileus* red (3 K 12 to "tomato" M. & P.), viscid but drying rapidly, glabrous, convex, eventually depressed in the center, 42–60 mm broad. *Lamellae* ocher-whitish to sordid pallid, medium-broad to broad, with scattered intervenosity, between close and subclose, often one or two forked, arcuate, deeply narrowly decurrent on the stipe. *Spore print* not obtained but accumulated spore masses on the lamellae cream-ocher. *Stipe* white but marbled or overlaid in part (especially in the middle of the stipe) by an "auburn" or "Vandyke br" (M. & P.) or slightly paler loose covering, the white ground color becoming obvious where handled, eventually often developing a salmon pink color ring around the apex, but this otherwise white, not viscid, solid, soon becoming hollow, cylindric or subcylindric but the base attenuated downwards, 60–73 x 12–15 mm; basal mycelium very scanty; veil present, forming a very narrow annulus at the apex of the stipe, annulus white on the upper surface, concolorous with the stipe covering of the middle of the stipe on the lower side, somewhat fugacious and easily overlooked, frequently eventually reduced to a more and more indistinct veil line. *Context* white, unchanging, elastic-fleshy, not fragile. *Odor* none. *Taste* mild.

(Fonte: Singer, R. 1981. *New Genera of Agaricales*. *Mycologia*, 73(3): 507)

*Basidiospores* (9.5-) 10.0–13.5 (-14.0) x (4.0-) 4.5–6.0 (-6.5)  $\mu\text{m}$  ( $Q_m = 2.18$ ), narrowly ellipsoid to fusiform, thick-walled (0.5–1.2  $\mu\text{m}$ ), hyaline in KOH, IKI-; ornamentation irregularly verrucose with verrucae up to 0.5  $\mu\text{m}$  length eventually connected, cyanophilic; apiculus 1.0–1.5  $\mu\text{m}$  long, acuminate. *Basidia* not observed. *Gloeocystidia* 42–108 x 4.5–7.5  $\mu\text{m}$ , on the sides and margin of the lamellae, abundant, versiform to lanceolate, deeply tapering and often becoming sinuous towards the base, apex tapered and obtuse, thin-walled, with homogeneous and hyaline content when young, then with refringent yellowish brown and

densely granular content when old; base inserted in hymenium or subhymenium, sometimes connected with gloeopleurous hyphae of lamellar trama, protruding above the hymenium when young. *Generative hyphae* clamped through all parts of basidioma and basal mycelium. *Gloeopleurous hyphae* 3–9.5  $\mu\text{m}$  diam., sinuous, often branched, thin-walled, aseptate, with homogeneous and refringent or yellowish brown and granular content. *Lamellar trama* gelatinized consisting in a lateralstratum with interwoven hyphae and a mediostratum with subparallel hyphae; gloeopleurous hyphae abundant. *Pileipellis* as an ixocutis consisting in a gelatinized layer of hyphae 1–3  $\mu\text{m}$  diam., scattered, thin-walled, with refringent content, hyaline to yellow; subpellis with hyphae 2.5–5.5  $\mu\text{m}$  diam., interwoven, more condensed, hyaline. *Pileus trama* with hyphae 4–13  $\mu\text{m}$  diam., interwoven, subparallel next to hymenium, thin-walled, hyaline to yellowish in KOH. *Stipitipellis* discontinuous, as an interwoven cutis, brownish in KOH, composed of hyphae 1.5–4  $\mu\text{m}$  diam., thin-walled, and some scattered pseudodermatocystidia as gloeocystidia. *Stipe trama* with hyphae 3–10  $\mu\text{m}$  diam., parallel, thin-walled, hyaline; some gloeopleurous hyphae with hyaline content. *Basal mycelium* composed of hyphae 3–8  $\mu\text{m}$  diam., densely interwoven, thin-walled becoming thick-walled (0.5–1  $\mu\text{m}$ ) in some parts, hyaline in KOH; occasional scattered gloeopleurous hyphae with granular content.

Hábito, habitat e distribuição: Gregário, em solo arenoso a argiloso, sob árvores de vegetação campinarana, principalmente Leguminosae. Cresce no final da estação chuvosa. Sul do Brasil (RS) e floresta amazônica brasileira (AM).

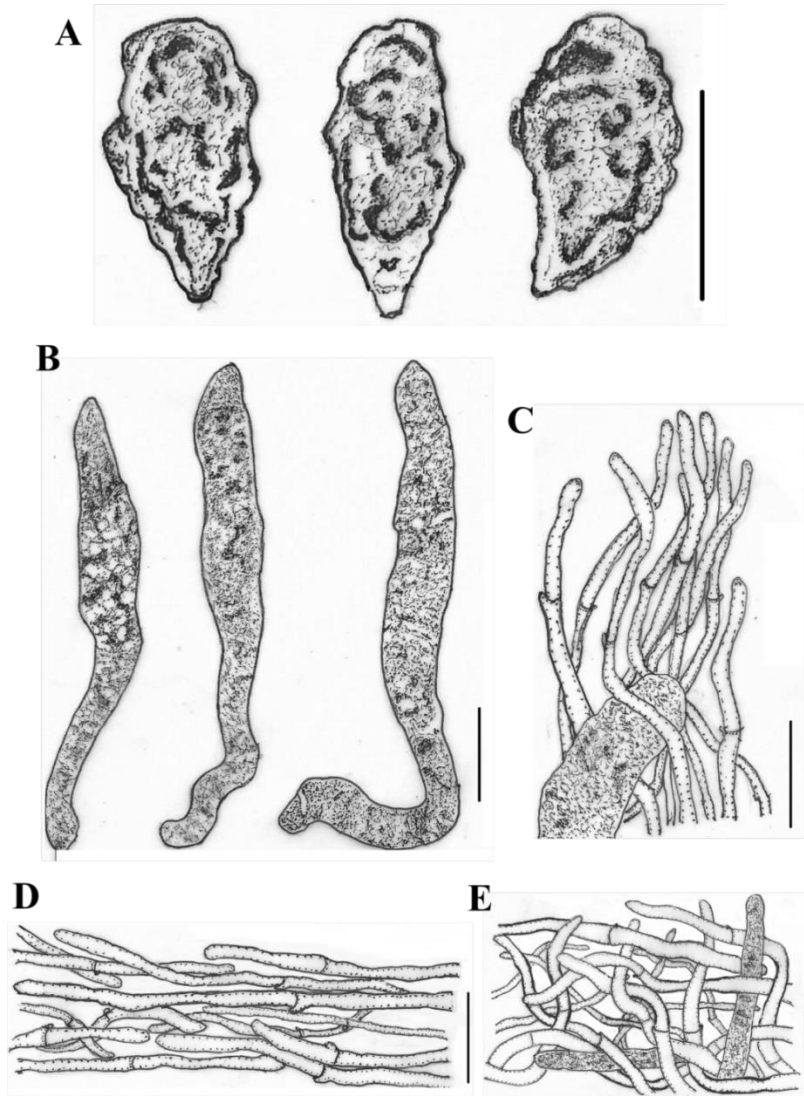
Espécimes examinados: BRASIL. Amazonas: estrada Manaus-Caracará, km 45, 20/07/1978, leg. José Lima, comm. *Singer B 11333* (INPA 82768 – neótipo).

Comentários: *Phyllobolites miniatus* foi proposto por Singer (1942), como a espécie tipo do gênero, a partir de um espécime coletado no Rio Grande do Sul pelo padre Rick. Contudo, o holótipo foi perdido e Singer (1981) propôs e descreveu o neótipo a partir de um material coletado na floresta amazônica no estado do Amazonas. A espécie caracteriza-se morfológicamente pelo basidioma robusto, píleo vermelho com a superfície glabra, lamelas verdadeiras decurrentes, presença de véu parcial e anel no estipe, basidiósporos estreitamente elipsoides a fusiformes com ornamentação verrucosa irregular e ápículo acuminado, gloeocistídios himenais e hifas gloeopleuras da trama da lamela abundantes e pileipellis gelatinizada. Distingui-se das outras espécies de

*Phyllobolites* pela presença de véu parcial formando um anel estreito e inconspícuo no ápice do estipe, ainda que não visível no espécime desidratado.

Essa espécie assemelha-se muito a *P. corneri* (Singer 1961; Corner 1969), espécie com ocorrência pra Mata Atlântica brasileira, com o basidioma agaricoide, píleo avermelhado, basidiósporos com tamanho semelhante ( $Q_m = 2.17$ ) e ornamentação verrucosa com as verrugas eventualmente anastomosadas e trama da lamela e pileipelis gelatinizadas. Porém, *P. corneri* não apresenta véu parcial e anel no basidioma, além de possuir basidiósporos com depressão suprahilar, estipitipelis tricoloral com caulocistídios abundantes e micélio basal com cistos conectados aos elementos gloeopleurais.

*Phyllobolites miniatus* representa o primeiro registro do gênero para o Brasil.



**Figura 9.** Características microscópicas de *Phyllobolites miniatus*. **A:** basidiósporos; **B:** gloeocistídios; **C:** estipitipelis; **D:** pileipelis; **E:** micélio basal. Escala = 10  $\mu\text{m}$ .



*Phyllobolites novae-zelandiae* (Segedin) Linhares & M.A. Neves, comb. nov. (Figs. 2F, 3G e 10)

≡ *Gomphus novae-zelandiae* Segedin (1984)

≡ *Gloeocantharellus novae-zelandiae* (Segedin) Giachini (2011)

Mycobank #####

Tipo: NOVA ZELÂNDIA. Auckland: Titirangi, Parque Atkinson, 19/06/1980, B.P. Segedin (PDD 44960) (!) (holótipo, Segedin 1984: 533).

*Basidiomes* thin fleshy, 35–70 mm in height, mainly mesopodal but sometimes slightly pleuropodal or tending towards meristomatoid, turbinate, 20 mm wide at the top, tapering gradually to 3 mm at base, or tapering more sharply to a distinct stipe. *Pileus* 12–28 mm diam., dull ochraceous to pale salmon, shallow depressed to widely infundibuliform, and sometimes perforate, fleshy, dry, matt to velvety; margin straight to slightly incurved, becoming more or less undulate, fairly thin; flesh at edge of pileus turns reddish on cutting but not on bruising. *Stipe* 3–6 mm diam., very variable in length (5–50 mm), depending on shape of fruiting body, cylindrical to flattened or grooved, hollow, velvety, concolorous with pileus, staining reddish on bruising. *Hymenial surface* deeply decurrent, slightly darker than pileus, almost smooth or with distant, very shallow, lamellar folds, not intervenose. *Flesh* ochraceous, soft. Colour of fruiting body changes very little on drying. *Smell* not noticeable, *taste* slightly bitter. Reactions: KOH yellowish; FeSO<sub>4</sub> purplish black to black.

(Fonte: Segedin, B.P. 1984. Two new species of *Gomphus* Pers. (Aphylophorales) from New Zealand. New Zealand Journal of Botany, 22: 533)

*Basidiospores* (7.5-) 8.5–10.5 x 3.5–5 µm ( $Q_m = 2.18$ ), narrowly ellipsoid to oblong, thick-walled (up to 1 µm), hyaline in KOH, faintly dextrinoid; ornamentation verrucose, with low verrucae, often connected forming irregular striae, cyanophilic; apiculus up to 1.2 µm, acuminate to confluent, inconspicuous. *Basidia* 54–77 x 8–9.5 µm, clavate, hyaline, 2-4 sterigmata up to 7 µm long. *Gloeocystidia* continuous and indifferentiated of gloeoplerous hyphae, inconspicuous. *Generative hyphae* clamped through all parts of basidiome and basal mycelium. *Gloeoplerous hyphae* 2–7 µm diam., sinuous, often branched, thin-

walled, aseptate, with homogeneous and refringent or yellowish brown and granular content; often end in hymenium forming tortuous pseudocystidia. *Subhymenium* gelatinized. *Pileipellis* as a cutis, with hyphae 2–4 µm diam., interwoven, often with upturned ends, thin-walled, hyaline. *Pileus trama* with hyphae 2.5–8 µm diam., parallel to slightly interwoven, thin-walled, hyaline; abundant gloeoplerous hyphae. *Stipitipellis* as an hymeniform layer (PDD 44960; ZT 1101) or interwoven cutis to trichodermial palisade (PDD 96999), with scattered gloeoplerous hyphae with granular content, connected to amorphous cysts 14–60 µm wide with granular content (PDD 96999); hyphae 2.5–7 µm diam., thin-walled to slightly thick-walled at hyphal ends; subpellis with some branched gloeoplerous hyphae with granular content. *Stipe trama* with hyphae 2–8 µm diam., parallel, thin-walled; abundant gloeoplerous hyphae. *Basal mycelium* composed of hyphae 1.5–4 µm diam., interwoven, thin-walled to slightly thick-walled; abundant and scattered gloeoplerous hyphae, often branched, with granular content, often connected to cysts 20–35 x 15–27 µm, globose to amorphous, with granular content.

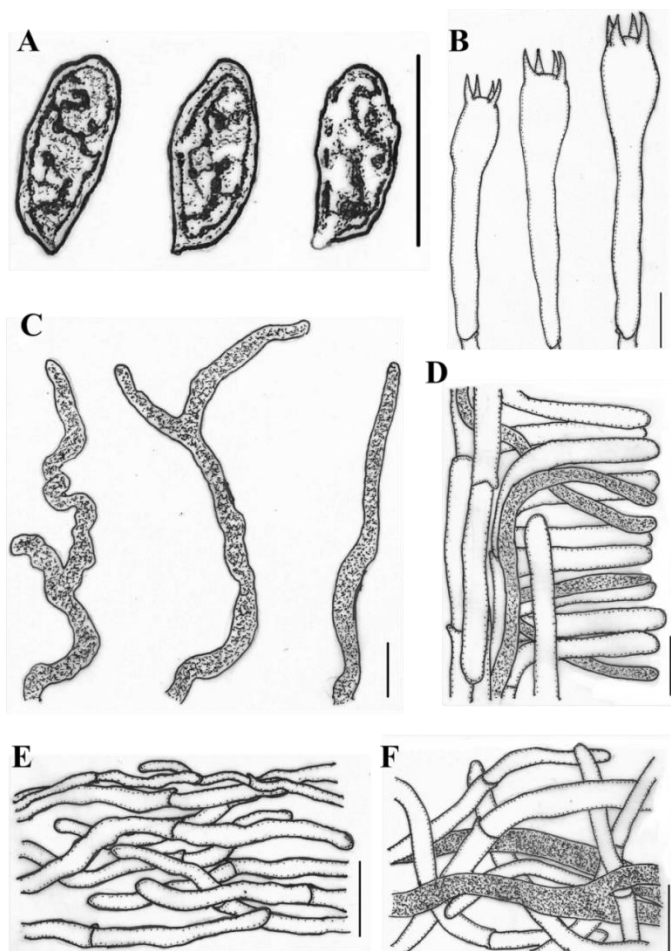
Hábito, habitat e distribuição: Gregário em floresta mista de *podocarp-broadleaf*. Nova Zelândia.

Espécimes examinados: NOVA ZELÂNDIA. Auckland: Titirangi, Parque Atkinson, 19/06/1980, *B.P. Segedin* (PDD 44960 – holótipo); (ZT 1101); Gisborne, *Motu Falls*, 17/05/2013, *W. Daley* (PDD 96999).

Comentários: *Phyllobolites novae-zelandiae* foi descrita por Segedin (1984) com ocorrência para a Nova Zelândia. É uma espécie diferenciada da maioria das espécies de *Phyllobolites* pela sua macromorfologia, com o basidioma pequeno tendendo a meristomatoide e o himenóforo liso a enrugado, assemelhando-se a *Gomphus*. Em sua micromorfologia, a espécie apresenta basidiósporos fracamente dextrinoides com ornamentação verrucosa (Fig. 3G), poucos gloeocistídios himenais os quais são contínuos às hifas gloeopleuras da trama da lamela e estipitipelis com hifas gloeopleuras espalhadas.

*Phyllobolites* sp. nov. 2 e *P. substramineus* assemelham-se macroscopicamente a *P. novae-zelandiae* pelo basidioma pálido, delgado e merismatoide a infundibuliforme. Porém, *Phyllobolites* sp. nov. 2 possui basidiósporos maiores (12–16 x 5–6.5 µm) com formato lacrimoide e estipitipelis com hifas dilatadas entrelaçadas (Giachini 2004). *Phyllobolites substramineus*, além de ter distribuição conhecida para o Brasil, apresenta basídios com esterigmas menores (1.5–3.5 µm

comp.), cystídios incolores e descontínuos às hifas gloeopleuras e menor quantidade de hifas gloeopleuras no contexto (Wartchow et al. 2017). A espécie é endêmica da Nova Zelândia e difere-se de *G. dingleyae*, a outra espécie com ocorrência para o país, além da macromorfologia bem distinta, pela presença de fíbulas e gloecistídios e pelo formato elipsoide a oblongo dos basidiósporos.



**Figura 10.** Características microscópicas de *Phyllobolites novae-zelandiae*. **A:** basidiósporos; **B:** basídios; **C:** gloecistídios; **D:** estipitipelis; **E:** pileipelis; **F:** micélio basal. Escala = 10  $\mu$ m.

*Phyllobolites uitotanus* (Vasco-Pal. & Franco-Mol) Linhares & M.A. Neves, comb. nov. (Figs. 2G, 3H e 11)

≡ *Gloeocantharellus uitotanus* Vasco-Pal. & Franco-Mol. (2005)

Mycobank #####

Tipo: COLÔMBIA. Dpto Amazonas: Los Monos, à margem sul do rio Caquetá, 220–240m altitude, 24/09/2001, A. Vasco-Palacios 376 (HUA) (!) (holótipo, Vasco-Palacios & Franco-Molano 2005: 89).

*Pileus* 20–36 (–60) mm diam., plano-convex, slightly depressed at the center, margin entire, inrolled when young then decurved when mature; surface humid and bright when young, dry and bright in mature specimens, smooth at the center becoming minutely fibrillose towards the margin, bright peach red to brownish red (8C8–9C8), paler towards the margin. *Context* up to 10 mm thick, fleshy, white, unchanging when bruised or exposed. *Lamellae* subdecurrent to decurrent, subdistant, sometimes furcate, some anastomosing towards the stipe, with lamellulae, pale yellow (4A2); margin entire or fimbriate. *Stipe* 20–70 x 7–15 mm, tapered downward, solid; surface dry, with scanty hairs to pulverulent at the apex, brownish red on pale yellow (3A2) background. All parts of the basidiome staining purplish brown when bruised (FLOR 59112).

*Basidiospores* 8.5–10.5 (–11.0) x 4.0–6.0  $\mu\text{m}$  ( $Q_m = 1.97$ ), narrowly ellipsoid or amygdaliform to subfusiform, thick-walled, hyaline to yellowish in KOH, IKI-; ornamentation up to 1.5  $\mu\text{m}$  length, sinuously verrucose-striate to reticulate, cyanophilic; apiculus 1–2  $\mu\text{m}$  long, acuminate to confluent. *Basidia* 33–69 x 7–11  $\mu\text{m}$ , clavate to slightly clavate, 4 sterigmata 5–7  $\mu\text{m}$  long. *Gloeocystidia* 60–129 x 5–10  $\mu\text{m}$ , on the sides and margin of the lamellae, scarce, cylindrical to sublanceolate, tapering towards the base, apex tapered and obtuse, with homogeneous and hyaline content when young, then with yellowish brown and densely granular content when old; base inserted in lamellar trama, sometimes projecting beyond the hymenium. *Generative hyphae* clamped through all parts of basidioma and basal mycelium. *Gloeoplerous hyphae* 2.5–4.5  $\mu\text{m}$  diam., sinuous, thin-walled, aseptate, sometimes branched, with homogenous and refringent or yellowish brown and granular content. *Lamellar trama* gelatinized, mediostratum subparallel; with hyphae 3–9 (–13)  $\mu\text{m}$  diam., hyaline, and some

gloeoplerous hyphae. *Pileipellis* as an ixocutis, orange red colored, yellowish in KOH, composed of hyphae 2.5–5 µm diam., interwoven, deeply sinuous, thin-walled, with refringent content; surface hyphae 1.5–3 µm diam., thin-walled, with granular/gutulate content. *Pileus trama* with hyphae 3–4 µm (type) or 6.5–15 µm diam. (FLOR 59112), interwoven, thin-walled becoming slightly thick-walled in some parts. *Stipitipellis* as an interwoven cutis, reddish brown or yellowish colored, with hyphae 3.5–7 µm diam., giving rise to bundles of abundant and vertically arranged caulocystidia as gloeocystidia. *Stipe trama* with hyphae 3.5–13 µm, parallel to subparallel, thin-walled to sometimes thick-walled (up to 2 µm); gloeoplerous hyphae rarely present. *Basal mycelium* composed of hyphae 2–6 µm diam., interwoven, thin-walled to thick-walled, hyaline to yellowish; some gloeoplerous hyphae with granular content; and cysts 9.5–17 x 8.5–16 µm, globose to amorphous, with granular content as gloeoplerous elements.

Hábito, habitat e distribuição: Gregário, crescendo em solo argiloso (holótipo). Amazônia colombiana e Mata Atlântica brasileira.

Espécimes examinados: COLÔMBIA. Dpto Amazonas: Los Monos, à margem sul do rio Caquetá, 220–240m altitude, 24/09/2001, A. Vasco-Palacios 376 (HUA – holótipo); BRASIL. Espírito Santo: Santa Teresa, Reserva Biológica Augusto Ruschi, trilha da cachoeira, 19°54'19.6"S, 40°34'8.2"O, 4/12/2012, A.C. Magnago 508 (FLOR 59112).

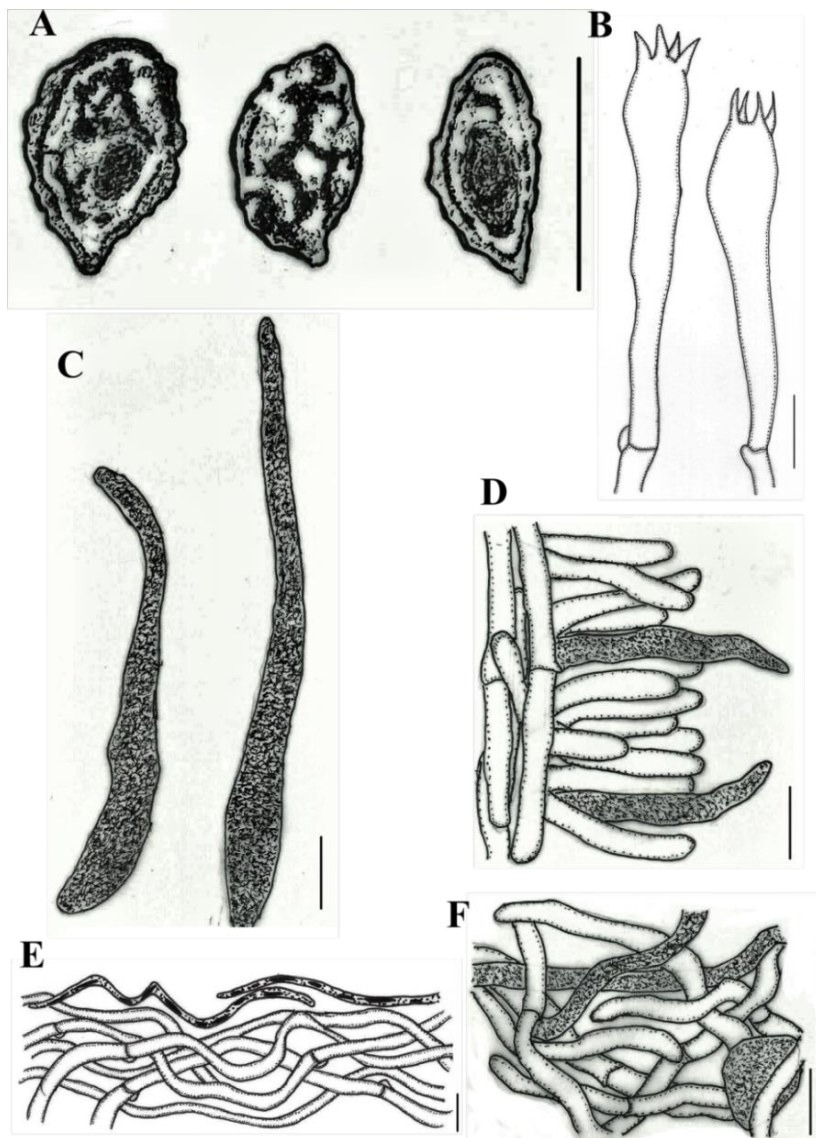
Comentários: *Phyllobolites uitotanus* foi descrita por Vasco-Palacios & Franco-Molano (2005) para a Amazônia Colombiana. Mais recentemente, a espécie foi coletada na Mata Atlântica brasileira, representando o segundo registro da espécie e o primeiro registro para o Brasil. A espécie apresenta basidiomas de pequeno porte que tornam-se arroxeados quando manuseados, píleo depresso vermelho vivo, lamelas verdadeiras amarelo pálidas e estipe com a superfície pulverulenta vermelha. Microscopicamente, possui basidiósporos estreitamente elipsoides a subfusiformes com ornamentação verrucosa-estriada a reticulada, poucos gloeocistídios himeniais e hifas gloeopleuras no contexto, trama da lamela e pileipellis gelatinizada e stipitipellis com feixes de caulocistídios.

Os espécimes analisados possuem algumas variações micromorfológicas. No holótipo, a ornamentação dos basidiósporos é composta de verrugas anastomosadas mais delgadas não chegando a ser reticulada. Já o espécime brasileiro apresenta uma ornamentação mais robusta e larga, tornando-se muitas vezes sinuosamente reticulada (Fig. 3H), distinção observada em MEV. Esse padrão de ornamentação, com

reticulações, é único entre as espécies de *Phyllobolites*. Além disso, o tipo possui hifas da trama do píleo mais estreitas (3–4  $\mu\text{m}$ ). Apesar das diferenças morfológicas, dados moleculares apontam uma relação filogenética próxima entre os espécimes, os quais representam uma mesma espécie filogenética (resultados aqui apresentados). Os dois materiais, ainda, ocorrem em diferentes florestas tropicais (Amazônia e Mata Atlântica), o que pode acarretar em variabilidade morfológica. Sendo assim, as diferenças morfológicas observadas foram consideradas variações intraespecíficas de *P. uitotanus*.

*Phyllobolites uitotanus* apresenta a macromorfologia similar a *P. lateritius*, espécie com ocorrência para o Sri Lanka e Índia (Pegler 1986; Joseph & Manimohan 1998). Ambas possuem basidiomas pequenos e com formato e coloração semelhantes, lamelas bifurcadas de cor creme e estipe com esquamulas sutis. Porém, *P. lateritius* apresenta a micromorfologia bem distinta, com basidiósporos elipsoides com ornamentação rugosa, basídios menores (37–45 x 5–7  $\mu\text{m}$ ), hifas gloeopleuras com conteúdo granular extremamente abundantes por todo o contexto, gloecistídios himeniais abundantes conectados às hifas gloeopleuras da trama da lamela e pileipelis não gelatinizada.

O espécime FLOR 59112 representa o primeiro registro de *P. uitotanus* para o Brasil.



**Figura 11.** Características microscópicas de *Phyllobolites uitotanus*. A: basidiósporos; B: basidios; C: gloeocistidios; D: estipitipelis; E: pileipelis; F: micelio basal. Escala = 10  $\mu$ m.

***Phyllobolites* sp. nov. 1** (Figs. 2H, 3I e 12)

Mycobank #####

Tipó: GUIANA. Floresta de encosta, 3-4 km ao leste da Base Potaro, 5/03/2001, *T. Henkel 8016* (!).

*Pileus* 36–65 mm across, 12–32 mm high, first convex to upturned, broadly depressed centrally with age; margin finely crenate and inrolled when young, more strongly crenate, inrolled and broadly wavy when mature, edge downturned and entire; surface dry, appearing smooth, finely matted tomentose (felty) under lens, rich rosy red with pinkish overtones (10A8 – 10B8 – 10B7). *Lamellae* 1–2 mm tall, decurrent, subthick, subdistant to close, forking 2-4 times, easily removable, pale cream to dull cream (4A3 – 4A4), edges concolorous; discoloring brown slowly upon pressure. *Stipe* 70–95 mm long, 10–15 mm wide centrally, equal but broadening evenly to 12–23 mm wide at apex, tapering evenly toward the base 5–7 mm wide, extreme base slightly attenuate and rounded, solid, surface felted with easily removed fine tomentum over upper 1/3, breaking into fine subfloccose scales over lower 2/3; ground tissue off-white covered with tomentum concolorous with pileus, becoming dull tannish-brown (4A2 – A3) near the base; base rooted in humus, basal mycelium absent. *Flesh* thick, solid, off-white, darkening slowly when cut. All parts of basidiomes staining brown to lilacish slowly upon pressure. *Odor* mildly fragrant. *Taste* slightly acrid, bitterish. *Spore print* ochraceous-brown (6C5 – 6C7).

*Basidiospores* 5.5–6.5 (-7.0) x (4.0-) 4.5–5.0  $\mu\text{m}$  ( $Q_m = 1.35$ ), broadly ellipsoid to ellipsoid, thick-walled (0.5  $\mu\text{m}$ ), hyaline to light yellow in KOH, IKI-; ornamentation inconspicuous, rugose to verruculose, without prominent outgrowths; apiculus up to 0.9  $\mu\text{m}$ , obtuse, hyaline. *Basidia* 45–76 x 8–9  $\mu\text{m}$ , clavate to cylindro-clavate, hyaline, 4 sterigmata 5–7  $\mu\text{m}$  long. *Gloeocystidia* 67–130 x 5–10  $\mu\text{m}$ , on the sides and margin of the lamellae, extremely abundant, cylindrical to lanceolate or versiform, deeply sinuous towards the base, apex tapered and obtuse, thin-walled; content densely granular, yellowish brown, dextrinoid, becoming hyaline refringent next to hymenium surface, or sometimes fully hyaline; base inserted in lamellar trama, often connected with gloeopleurous hyphae. *Generative hyphae* clamped through all parts of basidioma. *Gloeopleurous hyphae* 2–8  $\mu\text{m}$  diam., abundant, sinuous, thin-walled, aseptate, with content yellowish brown



granular and dextrinoid or homogeneous refringent. *Lamellar trama* interwoven, composed of generative hyphae and abundant gloeoplerous hyphae. *Pileipellis* as an interwoven cutis, with hyphae 2–5  $\mu\text{m}$  diam., slightly thick-walled, hyaline to light yellow in KOH. *Pileus trama* with hyphae 3–9  $\mu\text{m}$  diam., interwoven tending to parallel, thin-walled, hyaline to light yellow; abundant gloeoplerous hyphae, mainly next to pileipellis. *Stipitipellis* as a trichoderm, hyphae 2.5–5  $\mu\text{m}$  diam., wall slightly thick, hyaline to light yellow in KOH; with some caulocystidia as gloecystidia. *Stipe trama* with hyphae 3–8  $\mu\text{m}$  diam., parallel becoming interwoven next to stipitipellis, wall thin to slightly thick; abundant gloeoplerous hyphae.

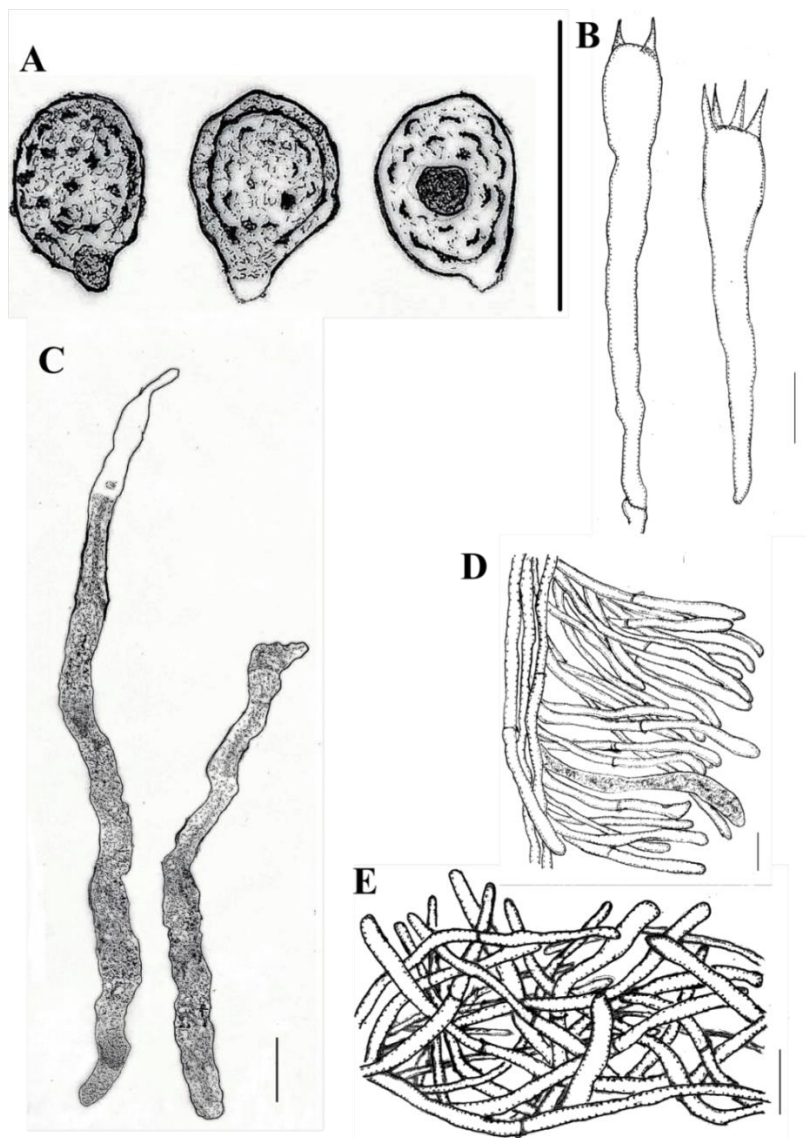
**Hábito, habitat e distribuição:** Agrupados em 2 a 3 basidiomas, em solo úmido sob árvores de *Dicymbe corymbosa* Spruce ex Benth. ou próximo à transição entre floresta mista e floresta de *D. corymbosa*. Guiana.

**Espécimes examinados:** GUIANA. Floresta de encosta, 3-4 km ao leste da Base Potaro, 5/03/2001, *T. Henkel 8016* (holótipo); próximo à floresta mista, 27/06/2003, *T. Henkel 8525* (parátipo).

**Comentários:** *Phyllobolites* sp. nov. 1 é macromorfológicamente caracterizada pelo hábito agaricoide-gonfoide do basidioma, píleo depresso com a superfície finamente tomentosa vermelha rosada, lamelas verdadeiras e furcadas cor creme, estipe sólido coberto por um tomento fino concolor ao píleo e contexto que escurece ao corte. Ainda, todas as partes do basidioma reagem lentamente ao manuseio, tornando-se marrom arroxeadas, reação característica também de *P. corneri*, *P. echinosporus*, *P. lateritius*, *P. okapaensis*, *P. purpurascens* e *P. uitotanus*. Micromorfológicamente, a espécie é caracterizada pelos basidiósporos pequenos amplamente elipsoides com ornamentação inconspícua rugosa a verruculosa e apículo obtuso, abundância de gloeocistídios himeniais e hifas gloeopleuras no contexto, pileipellis como cutis e estipitipellis tricodermal com alguns caulocistídios, além de hifas da trama da lamela e do estipe e da estipitipellis com a parede engrossada. Os gloeocistídios são cilíndricos e sinuosos, nos quais frequentemente o conteúdo granular é contínuo até próximo ao ápice onde torna-se hialino ou é completamente hialino, padrão não observado nas outras espécies, que possuem cistídios completamente granulares ou hialinos. Além disso, os gloeocistídios himeniais muitas vezes são conectados às hifas gloeopleuras da trama da lamela, como pseudocistídios, os quais também ocorrem em *P. lateritius*, *P. novae-zelandiae*, *P. okapaensis* e *P. purpurascens*. A nova espécie possui basidiósporos atípicos, com as menores dimensões e o menor  $Q_m$  (1.35)

para o gênero, além da ornamentação rasa quase imperceptível em microscopia de luz.

*Phyllobolites* sp. nov. 1 possui a macromorfologia similar a *P. uitotanus*, com o basidioma agaricoide de cor avermelhada e reativo ao manuseio tornando-se marrom arroxeadado. Porém, *P. uitotanus* possui basidiósporos maiores e com ornamentação verrucosa e gloeocistídios escassos e desconectados às hifas gloeopleuras. Microscopicamente, é semelhante a *P. lateritius* e *P. okapaensis*. Ambas as três espécies possuem basidiósporos com ornamentação rugosa, abundância de elementos gloeopleurais e gloeocistídios himeniais como extensões das hifas gloeopleuras da trama da lamela. Contudo, *P. lateritius* e *P. okapaensis* apresentam basidiósporos maiores e pileipelis tricodermal. Os espécimes de *Phyllobolites* sp. nov. 1 foram identificados como *P. miniatus* por Henkel et al. (2012), porém a micromorfologia é bastante distinta. *Phyllobolites* sp. nov. 1 possui basidiósporos menores e gloeocistídios mais estreitos. Este é o primeiro registro do gênero para as florestas da Guiana e está entre as seis espécies de *Phyllobolites* endêmicas da América do Sul, junto com *P. aculeatus*, *P. corneri*, *P. mamorensis*, *P. substramineus* e *P. uitotanus*.



**Figura 12.** Características microscópicas de *Phyllobolites* sp. nov. 1. **A:** basidiósporos; **B:** basídios; **C:** gloeocistídios; **D:** estipitipelis; **E:** pileipelis. Escala = 10 μm.

***Phyllobolites* sp. nov. 2** (Fig. 2I)

Mycobank #####

Tipó: PAPUA NOVA GUINÉ. Província de Morobe: about 40 km ao sudeste de Lae, parcelas em regeneração de Oomsis, 13/02/1992, *N.L. Bougher & M.A. Castellano E 4549* (PERTH 06707114) (holótipo, Giachini 2004: 179).

*Basidiomes* up to 7.5 cm tall, agaricoid-gomphoid, commonly tending toward merismatoid. *Pileus* up to 4 cm wide, funnel- to fan-shaped, upturned, dry, tomentose to glabrous but not scaly, creamy yellow when fresh, pale yellow, pale brown with yellow spots when dry; margin strongly undulated, incurved at first. *Hymenophore* decurrent, of longitudinally arranged folds that extend down to half the length of the stipe, where it becomes smooth and inconspicuous and extends almost to the substract level, multi forked, especially toward the margin of the pileus, folds shallow (up to 2 mm tall), creamy yellow in fresh basidiomes, pale yellow to pale or dark brown when dry. *Stipe* up to 50 x 15 mm, solid, cylindrical to flattened or grooved, slightly tapered downward, tomentose to glabrous, concolorous with the hymenophore above, cream colored below. Context white, unchanging when cut or bruised. *Odor* not distinctive. *Taste* not recorded. *Spore print* brown, paler when dried.

*Basidiospores* 12–15 (-16) x 5–5.5 (-6.5)  $\mu\text{m}$ , yellow in mass, ellipsoid in face view, elongate lacrimoid in profile; ornamentation of coarse, non-anastomosed, cyanophilic warts; apiculus prominent, eccentric. *Basidia* 50–70 x 5–6  $\mu\text{m}$ , clavate, hyaline, tips commonly inflated up to 12  $\mu\text{m}$ , with 4 stout, straight, not divergent sterigmata up to 8  $\mu\text{m}$  long; clamp connections present at base. *Hymenial cystidia* 70–90 x 5–7.5  $\mu\text{m}$ , gloeoplerous, obtuse, dispersed among basidia, hyaline. *Pileipellis* of thin-walled, compactly arranged, interwoven, occasionally inflated, hyaline hyphae, clamp connections present; gloeoplerous hyphae not seen. *Stipitipellis* of thin-walled, interwoven, septate, mucilaginous appearing, hyaline, moderately cyanophilic hyphae, a few with agglutinating materials, inflated up to 8  $\mu\text{m}$ ; clamp connections present; gloeoplerous hyphae thin-walled, long and tortuous, interspersed among other hyphae.

Hábito, habitat e distribuição: Solitário ou gregário mas não cespitoso, em solo sob árvores de *Castanopsis* e *Lithocarpus* próximo à Lae, Papua Nova Guiné.

Comentários: *Phyllobolites* sp. nov. 2 foi descrita por Giachini (2004) como *Gloeocantharellus papuanus* Giachini, Castellano et Trappe, nom. ined. É caracterizada pelos basidiomas de cor pálida tendendo a merismatoides, basidiósporos alongados a lacrimoides com ornamentação verrucosa e presença de cistídios himeniais hialinos. Morfologicamente, a espécie assemelha-se a *P. novae-zelandiae* pelo basidioma pálido tendendo a merismatoide, porém *P. novae-zelandiae* apresenta basidiósporos menores (7,5–10,5 x 3,5–5,0  $\mu\text{m}$ ) e gloeocistídios com conteúdo granular amarelado. *Phyllobolites* sp. nov. 2 compartilha com *P. substramineus* a coloração pálida do basidioma e a presença de cistídios himeniais hifoides. Contudo, *P. substramineus* possui basidiomas menores (até 4 cm de altura), cistídios mais longos (70–90 x 5,0–7,5  $\mu\text{m}$ ) e basidiósporos menores (8,5–12,5 x 4,0–5,3  $\mu\text{m}$ ), além de ocorrer na Mata Atlântica brasileira.

Chave de identificação de *Phyllobolites*

1. Basidioma delgado (estipe com até 6 mm diam.)
  2. Basidioma cor ocre a salmão pálido; gloeocistídios presentes; basídios com esterigma de até 7  $\mu\text{m}$  comp.; basidiósporos 7,5–10,5 x 3,5–5,0  $\mu\text{m}$ ..... *P. novae-zelandiae*
  - 2'. Basidioma cor creme pálido; gloeocistídios ausentes; basídios com esterigma de até 3,5  $\mu\text{m}$  comp.; basidiósporos 8,5–12,5 x 4,0–5,3  $\mu\text{m}$ ..... *P. substramineus*
- 1'. Basidioma robusto (estipe com mais de 6 mm diam.)
  3. Gloeocistídios ausentes
    4. Fíbulas presentes..... *P. mamorensis*
    - 4'. Fíbulas ausentes
      5. Basidiomas agaricoide-gonfoides de cor ocre rosada (6C5 - 6C8); basidiósporos 9,0–14,0 x 4,0–7,0  $\mu\text{m}$ ..... *P. dingleyae*
      - 5'. Basidiomas gonfoides de cor creme (4A2 - 4A3); basidiósporos 9,0–12,5 x 3,5–5,0  $\mu\text{m}$ ..... *P. pallidus*
  - 3'. Gloeocistídios presentes
    6. Basidiósporos com ornamentação aculeada ou equinulada
      7. Basidiósporos com ornamentação aculeada..... *P. aculeatus*
      - 7'. Basidiósporos com ornamentação equinulada..... *P. echinosporus*
    - 6'. Basidiósporos com ornamentação verrucosa ou rugosa
      8. Gloeocistídios diretamente conectados às hifas gloeopleuras

9. Basidiósporos amplamente elipsoides (5.5–7.0 x 4.0–5.0  $\mu\text{m}$ ); gloeocistídios preenchidos parcialmente com conteúdo granular, tornando-se hialino próximo ao ápice..... *Phyllobolites* sp. nov. 1
- 9'. Basidiósporos elipsoides (7.0–13.5 x 3.5–8  $\mu\text{m}$ ); gloeocistídios preenchidos completamente com conteúdo granular amarelo amarronzado
10. Gloeocistídios presentes na pileipelis..... *P. purpurascens*
- 10'. Gloeocistídios ausentes na pileipelis
11. Contexto com alteração na cor ao ser exposto; basídios tetraesterigmados; hifas da pileipelis sem projeções..... *P. lateritius*
- 11'. Contexto sem alteração na cor ao ser exposto; basídios triesterigmados; hifas da pileipelis eventualmente com projeções lobuladas..... *P. okapaensis*
- 8'. Gloeocistídios não conectados diretamente às hifas gloeopleuras
12. Véu parcial presente, formando um anel inconspícuo no estipe..... *P. miniatus*
- 12'. Véu parcial ausente
13. Basidioma sem alteração na coloração ao manuseio
14. Píleo subvívscido com coloração laranja avermelhada (7A4 - 8A4); himenóforo lamelar; gloeocistídios com conteúdo granular amarelado; basidiósporos 7.8–10.1 x 4.1–5.8  $\mu\text{m}$ ..... *P. persicinus*
- 14'. Píleo seco com coloração amarelo creme (4A3 - 4A4); himenóforo em dobras a liso; gloeocistídios

hialinos; basidiósporos 12–16 x 5–6.5  $\mu\text{m}$ ..... *Phyllobolites* sp. nov. 2

13'. Basidioma com coloração mutável após o manuseio, tornando-se roxo amarronzado ou avermelhado

15. Basidiósporos amplamente elipsoides ( $Q_m = 1.35$ ); gloecistídios com conteúdo granular, tornando-se hialino próximo ao ápice..... *Phyllobolites* sp. nov. 1

15'. Basidiósporos elipsoides a subfusiformes ( $Q_m = 1.73\text{--}2.17$ ); gloecistídios preenchidos completamente com conteúdo granular

16. Basidiomas de até 160 mm comp.; píleo com superfície lisa; basidiósporos 9.0–14.0 x 4.5–6.0  $\mu\text{m}$  com ornamentação verrucosa..... *P. corneri*

16'. Basidiomas de até 70 mm comp.; píleo com superfície fibrilosa em direção à margem, basidiósporos 8.5–10.5 (-11.0) x 4.0–6.0  $\mu\text{m}$  com ornamentação verrucosa-estriada a reticulada..... *P. uitotanus*



### Análises morfológicas

*Phyllobolites* (como *Gloeocantharellus*) é um gênero bem circunscrito morfológica e filogeneticamente, embora sejam poucas as coletas e os registros pelo mundo. O gênero engloba 17 espécies que ocorrem majoritariamente na região tropical e subtropical do mundo (Giachini & Castellano 2011; Linhares et al. 2016; Wartchow et al. 2017 – como *Gloeocantharellus* spp.), com registro de ocorrência para o Neotrópico (América do Sul) e regiões Holártica (América do Norte e Leste da Ásia), Paleotropical (Sudeste da Ásia) e Australiana (Oceania) (Tabela 2). Apenas *P. purpurascens* e *P. pallidus* ocorrem em regiões temperadas. O espécime *Phyllobolites* aff. *pallidus* (ADK4838), coletado no Togo, representa o primeiro registro do gênero para o continente africano e possivelmente representa uma espécie nova.

**TABELA 2.** Espécies de *Phyllobolites* registradas para o mundo.

<b>Taxon</b>	<b>Ocorrência</b>	<b>Referências</b>
<i>Phyllobolites aculeatus</i> (Linhares, Daniëls & M.A. Neves) Linhares & M.A. Neves, comb. nov.	Brasil (SC e ES)	Linhares et al. (2016)
<i>Phyllobolites corneri</i> (Singer) Linhares & M.A. Neves, comb. nov.	Brasil (RJ e PR)	Singer (1961); Watling & de Meijer (1997)
<i>Phyllobolites dingleyae</i> (Segedin) Linhares & M.A. Neves, comb. nov.	Nova Zelândia	Segedin (1984)
<i>Phyllobolites echinosporus</i> (Corner) Linhares & M.A. Neves, comb. nov.	Singapura Malásia Ilhas Salomão Papua Nova Guiné	Corner (1969); (presente estudo)
<i>Phyllobolites lateritius</i> (Petch) Singer	Sri Lanka Índia	Petch (1917); Joseph & Manimohan (1998)
<i>Phyllobolites mamorensis</i> (Singer) Linhares & M.A. Neves, comb. nov.	Bolívia	Singer et al. (1983)

**(cont.)TABELA 2.** Espécies de *Phyllobolites* registradas para o mundo.

<b>Taxon</b>	<b>Ocorrência</b>	<b>Referências</b>
<i>Phyllobolites miniatus</i> (Rick) Singer	Brasil (RS e AM)	Rick (1906); Singer (1942); Singer (1981); Henkel et al. (2012)
<i>Phyllobolites novae-zelandiae</i> (Segedin) Linhares & M.A. Neves, comb. nov.	Nova Zelândia	Segedin (1984)
<i>Phyllobolites okapaensis</i> (Corner) Linhares & M.A. Neves, comb. nov.	Papua Nova Guiné Ilhas Salomão	Corner (1966); Corner (1969)
<i>Phyllobolites pallidus</i> (Yasuda) Linhares & M.A. Neves, comb. nov.	Japão Rússia México	Lloyd (1917); Bulakh & Govorova (2000); Villegas et al. (2010)
<i>Phyllobolites persicinus</i> (T.H. Li, Chun Y. Deng & L.M. Wu) Linhares & M.A. Neves, comb. nov.	China	Deng & Li (2008)
<i>Phyllobolites purpurascens</i> (Hesler) Linhares & M.A. Neves, comb. nov.	EUA México	Smith & Hesler (1943); González-Ávila et al. (2013)
<i>Phyllobolites russuloides</i> (Petch) Singer	Sri Lanka	Petch (1909); Singer (1942)
<i>Phyllobolites substramineus</i> (Wartchow) Linhares & M.A. Neves, comb. nov.	Brasil (PB)	Wartchow et al. (2017)
<i>Phyllobolites uitotanus</i> (Vasco-Pal. & Franco-Mol.) Linhares & M.A. Neves, comb. nov.	Colômbia Brasil (ES)	Vasco-Palacios & Franco-Molano (2005)
<i>Phyllobolites</i> sp. nov. 1	Guiana	(presente estudo)
<i>Phyllobolites</i> sp. nov. 2	Papua Nova Guiné	Giachini (2004)

As espécies de *Phyllobolites* podem ser diferenciadas entre si por um conjunto de características morfológicas. Macromorfológicamente, o que distingue as espécies é a robustez, textura e coloração do basidioma, padrão do himenóforo e reação do basidioma ao manuseio. A maioria das espécies apresenta basidiomas robustos, exceto por *P. novae-zealandiae* e *P. substramineus*. A reação do basidioma ao manuseio é característico de *P. corneri*, *P. echinosporus*, *P. lateritius*, *P. okapaensis*, *P. purpurascens*, *P. uitotanus* e *Phyllobolites* sp. nov. 1, nas quais tornam-se roxo amarronzados ou avermelhados.

As principais características microscópicas taxonomico-informativas para a separação das espécies são: dimensão, formato, valor  $Q_m$  e ornamentação dos basidiósporos, formato do ápulo, presença ou ausência de gloeocistídios no himênio e na estipitipelis, conexão estrutural dos elementos gloeopleurais, quantidade de hifas gloeopleuras, presença ou ausência de fíbulas e padrão de disposição das hifas da pileipelis e da estipitipelis. Dentre esses, as características dos basidiósporos possuem destaque na discriminação das espécies, principalmente a ornamentação da parede e o valor  $Q_m$ . Das espécies analisadas, *Phyllobolites* sp. nov. 1 possui o menor valor  $Q_m$  (1.35), com basidiósporos amplamente elipsoides, e *P. dingleyae* o maior valor  $Q_m$  (2.21), sendo estreitamente elipsoides a subfusiformes. *Phyllobolites dingleyae* diferencia-se pelos basidiósporos eventualmente rostrados, com o ápice proeminente e afunilado. A maioria das espécies apresenta um padrão de ornamentação dos basidiósporos verrucoso a rugoso. *Phyllobolites aculeatus* e *P. echinosporus* diferenciam-se pela ornamentação aculeada e equinulada dos basidiósporos, respectivamente. Em *P. uitotanus* a ornamentação é verrucosa-estriada a reticulada, apresentando uma variação entre os espécimes analisados na robustez e anastomose das projeções. Em *P. aculeatus* e *P. echinosporus* também foi observada uma pequena variação no comprimento das projeções da ornamentação entre os espécimes, o que mostra que é um caráter passível de variabilidade intraespecífica.

A presença de gloeocistídios é uma das características mais conspícuas de *Phyllobolites*, apesar de ausentes em *P. dingleyae*, *P. mamorensis*, *P. substramineus* e *P. pallidus*. São estruturas versiformes a lanceoladas, sinuosas, com a parede fina e conteúdo densamente granular amarelo amarronzado. Quando imaturos, são hialinos e com conteúdo homogêneo. A composição do conteúdo e a função dessas microestruturas estéreis ainda é incerta. Estudos sugerem que tenham um papel de defesa contra a predação de nematódeos que se alimentam de fungos (Agerer et al. 1994; Tanney & Hutchison 2011). Um papel de

defesa dos gloeocistídios explicaria dois fenômenos observados neste estudo. Primeiro, o frequente extravazamento do conteúdo de muitos gloeocistídios, formando um glóbulo apical, já citado por Corner (1969), observado em várias espécies. Ainda, o aumento em quantidade dos gloeocistídios himeniais em direção à ponta da lamela (parte do himenóforo mais exposta ao meio), onde encontram-se extremamente abundantes, observado em *P. corneri*. Os gloeocistídios presentes nas espécies de *Phyllobolites* podem estruturar-se de duas formas: como estruturas independentes, sem conexão com hifas gloeopleuras, ou como pseudogloeocistídios, contínuos às hifas gloeopleuras da trama e projetando-se no himênio e/ou superfície do píleo e do estipe. Este segundo tipo aparece em *P. lateritius*, *P. novae-zelandiae*, *P. okapaensis*, *P. purpurascens* e *Phyllobolites* sp. nov. 1. *Phyllobolites* sp. nov. 1 apresenta gloeocistídios diferenciados, com o conteúdo granular contínuo até próximo ao ápice onde torna-se hialino refringente. Caulocistídios estão presentes em *P. aculeatus*, *P. corneri*, *P. echinosporus*, *P. miniatus*, *P. purpurascens*, *P. uitotanus* e *Phyllobolites* sp. nov. 1. Pileocistídios foram observados somente em *P. purpurascens* (Petersen 1971; Giachini 2004). Corner (1969) hipotetizou um padrão de evolução dos gloeocistídios e hifas gloeopleuras no gênero. A presença somente de hifas gloeopleuras na trama e ausência de cistídios seria uma condição ancestral em *Phyllobolites*, ocorrendo também nas espécies de *Gomphus*. A condição intermediária seria a presença de gloeocistídios himeniais conectados às hifas gloeopleuras da trama. Já espécies com gloeocistídios e hifas gloeopleuras sem conexão estrutural representariam uma condição mais derivada no gênero.

A caracterização micromorfológica do micélio basal ainda é incomum nos trabalhos taxonômicos. No entanto, esse micélio possui valor taxonômico e que pode ser usado para diferenciar as espécies. Nas espécies de *Phyllobolites*, o micélio basal distingue-se pela quantidade de hifas gloeopleuras, espessamento da parede das hifas generativas e presença/ausência e tamanho de cistos conectados às hifas gloeopleuras. *Phyllobolites novae-zelandiae* possui os maiores cistos observados entre as espécies, com 20–35 x 15–27  $\mu\text{m}$ . *Phyllobolites aculeatus* apresenta cristais de até 1 $\mu\text{m}$  de largura espalhados entre as hifas do micélio. *Phyllobolites* sp. nov. 1 não apresenta micélio basal.

As fíbulas estão presentes na maioria das espécies do gênero, ausentes em *P. dingleyae* e *P. pallidus*. Giachini et al. (2010) sugerem a presença de fíbulas como uma condição ancestral em Gomphales, com múltiplas perdas desse caráter ao longo da evolução das linhagens.

### Análises filogenéticas moleculares

Quarenta e oito sequências foram geradas nesse estudo (21 mit-*atp6*, 13 nrITS, and 14 nuLSU). Os melhores modelos de evolução estimados para cada partição das matrizes foram os seguintes: TPM1uf+G, TrN+G e TPM1uf+I+G para a primeira, segunda e terceira posição de códons de mit-*atp6*, respectivamente, TrN+I+G e K80+I para ITS1/2 e 5.8S, respectivamente, e TrN+G para nuLSU. Apenas a topologia da análise de ML baseada em mit-*atp6* foi exibida, com ambos os valores de BS e BPP mostrados (Fig. 1), devido ao maior suporte dos clados e maior número de amostras. As análises de ML e BI baseadas em nrITS e nuLSU estão nos anexos e não estão em destaque por apresentarem baixo suporte na maioria dos clados.

As árvores de mit-*atp6* e nuLSU incluíram, além de espécies de *Phyllobolites*, outros gêneros de Gomphales (*Gautieria*, *Gomphus* e *Turbinellus*) para verificar a posição filogenética de *Phyllobolites* e sua relação com estes. A região nrITS é pouco utilizada nos estudos moleculares de Gomphales, porém foi incluída no presente trabalho por ser a região barcoding de fungos.

As análises de ML e BI baseadas em mit-*atp6* (Fig. 1) geraram árvores com topologias semelhantes. Elas diferem somente na posição do clado representado por *P. novae-zelandiae*, o qual na árvore de ML forma um táxon irmão dos dois principais clados de *Phyllobolites* mais *Phyllobolites* sp. nov. 2, com baixo valor de suporte (BS = 31) e na árvore de BI forma uma politomia em relação a estes.

No filograma de mit-*atp6*, *Phyllobolites* formou um agrupamento monofilético bem suportado (BS = 86; BPP = 0.98). *Gomphus*, *Gautieria* e *Turbinellus* se juntaram num grupo irmão de *Phyllobolites* (BS = 63; BPP = 1). Já na análise BI baseada em nuLSU (Anexo 2), *Phyllobolites* surge como um grupo parafilético, separado em dois clados (BPP = 1 / 0.7) e um ramo representado por *P. pallidus* relacionado com *Turbinellus* (BPP = 0.52).

Em todas as análises, *Phyllobolites* está representado por dois clados maiores e mais inclusivos (clado 1 e 2), com máximo valor de suporte nas árvores de mit-*atp6*, um ramo representado por *Phyllobolites* sp. nov. 2, um clado de *P. novae-zelandiae*, e um ramo de *P. pallidus*. *Phyllobolites novae-zelandiae* e *P. pallidus* surgem como ramificações mais basais. No clado 1, *P. corneri* e *P. uitotanus* estão proximamente relacionados, em um clado com alto suporte, as quais formam um grupo-irmão com *P. aculeatus* (BS = 44; BPP = 0.79). Estes agruparam-se com *P. echinosporus*. Dentro do clado 2, dois clados mais

inclusivos podem ser observados. Um clado bem-suportado composto por *P. purpurascens* e outro com baixo suporte (BS = 68; BPP = 0.58) formado por *P. okapaensis* agrupado com *Phyllobolites* sp4 (BS = 97; BPP = 1), *Phyllobolites* sp3 (BS = 100; BPP = 1) e dois ramos mais basais com *Phyllobolites* sp. nov. 1 e *Phyllobolites* sp. nov. 2 surge como grupo-irmão do clado 1. Na análise de nrITS (Anexo 1), *P. persicinus* também está incluída no clado 2, proximalmente relacionada com *P. okapaensis*, *Phyllobolites* sp3 e *Phyllobolites* sp4 (BS = 72; BPP = 0.7).

Na análise de nrITS, *Phyllobolites* aff. *pallidus* e *Phyllobolites* sp5 estão representados por ramos longos e formam um grupo-irmão do clado 2 (BS = 30; BPP = 0.68).

Inferências de estudos filogenéticos prévios que incluem espécies de *Phyllobolites* (como *Gloeocantharellus*) são limitados por um baixo número de sequências, com enfoque nas relações a nível de gênero e ordem (Pine et al. 1999; Hosaka et al. 2006; Giachini et al. 2010). Nossa reconstrução baseada em mit-*atp6* revela, com alto valor de suporte, que *Phyllobolites* é monofilético. Além disso, inclui espécies que pertencem a duas linhagens bem definidas e três linhagens menos suportadas, apresentando características morfológicas distintas.

*Phyllobolites pallidus* representa o grupo irmão das demais linhagens na reconstrução filogenética do gênero, corroborando com a análise de Giachini et al. (2010), além de ser única espécie de *Phyllobolites* representada na análise que não possui fíbulas. *Phyllobolites novae-zelandiae* agrupou-se em um clado, com baixo valor de sustentação, e representa o grupo irmão do grande clado formado pelo clado 1, clado 2 e *Phyllobolites* sp. nov. 2. *Phyllobolites pallidus* e *P. novae-zelandiae* são caracterizadas por apresentarem basidiomas com hábito gonfoide, assemelhando-se às espécies de *Gomphus* e *Turbinellus*, sugerindo que estes estados de caráter são ancestrais no grupo. Dois cladogramas mais inclusivos e com máximo suporte foram estabelecidos. Ambos são formados por táxons que possuem basidioma agaricoide-gonfoide. O clado 1 é constituído por uma linhagem neotropical representada por *P. aculeatus*, *P. corneri* e *P. uitotanus*; e uma linhagem paleotropical representada por *P. echinosporus*. Além do hábito do basidioma, as espécies deste clado compartilham a abundância de caulocistídios. Ainda, *P. aculeatus*, *P. echinosporus* e *P. uitotanus* possuem basidiósporos com ornamentação diferenciada das outras espécies (aculeada, equinulada e verrucosa-estriada, respectivamente), além de uma nítida variação intraespecífica nesse caráter. O clado 2 é formado pela espécie estadunidense *P.*

*purpurascens*, como um táxon irmão do clado composto pelas linhagens australianas *P. okapaensis*, *Phyllobolites* sp3 e *Phyllobolites* sp4, pela espécie neotropical aqui proposta *Phyllobolites* sp. nov. 1 e por *Phyllobolites* sp. Mais análises são necessárias para verificar possíveis características morfológicas compartilhadas entre os táxons desse clado, que corroborem com a nossa hipótese filogenética. A posição filogenética de *Phyllobolites* sp. nov. 2 e a relação com os outros cladros são incertas, de modo que a linhagem surge em pontos distintos nas filogenias de mit-*atp6* e nuLSU, em ambas com baixo valor de suporte.

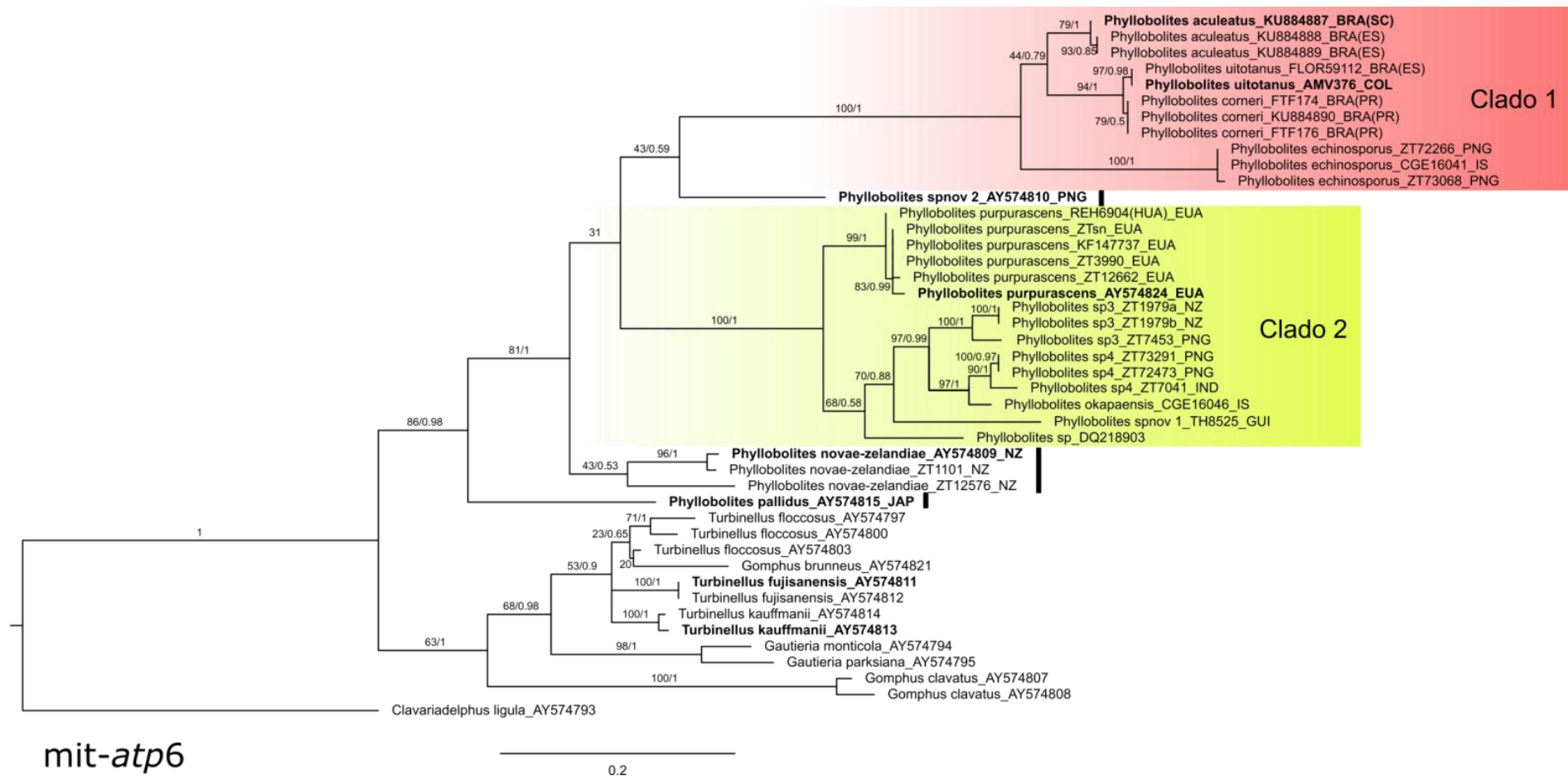
É possível observar um padrão morfológico na presença de gloeocistídios e hifas gloeopleuras e na conexão estrutural desses elementos, que corroboram com a topologia dos cladros formados na análise de mit-*atp6*. *Phyllobolites pallidus*, que diverge primeiramente na filogenia proposta, não apresenta gloeocistídios, somente hifas gloeopleuras. *Phyllobolites novae-zelandiae* apresenta gloeocistídios inconspícuos contínuos às hifas gloeopleuras, sem diferenciação morfológica destas, que desembocam no himênio (pseudocistídios). No clado 2, *P. purpurascens*, *P. okapaensis*, *Phyllbolites* sp. nov. 1 e *Phyllobolites* sp3 (ZT7041) possuem gloeocistídios himeniais e hifas gloeopleuras abundantes e conectados estruturalmente, os quais estão presentes também na superfície do píleo em *P. purpurascens* e do estipe em *P. purpurascens* e *Phyllbolites* sp. nov. 1. *Phyllobolites persicinus* (nrITS) também se encaixa nessa morfologia (Deng & Li 2008). Contudo, é necessário examinar *Phyllobolites* sp4 para verificar se segue o padrão morfológico dos táxons do clado. Em *Phyllobolites* sp. nov. 2 os gloeocistídios são hialinos (Giachini 2004). No clado 1, as espécies neotropicais *P. aculeatus*, *P. corneri* e *P. uitotanus* e a espécie paleotropical *P. echinosporus* produzem gloeocistídios abundantes desconexos às hifas gloeopleuras, as quais são bem menos frequentes que nas espécies que formam o clado 2. A presença de gloeocistídios como estruturas independentes pode ser considerada uma característica diagnóstica dos táxons do clado que engloba o clado 1 e *Phyllobolites* sp. nov. 2.

*Phyllobolites* apresenta alta diversidade na região neotropical, com nove espécies conhecidas (*P. aculeatus*, *P. corneri*, *P. mamorensis*, *P. miniatus*, *P. pallidus*, *P. substramineus*, *P. uitotanus*, *Phyllobolites* sp. nov. 1 e *Phyllobolites* sp5). As linhagens neotropicais aparecem no clado 1 (espécimes brasileiros e colombianos), no clado 2 (*Phyllobolites* sp. nov. 1) e no ramo representado por *Phyllobolites* sp5 (ZT9967) na árvore de nrITS. No Brasil, há registro de ocorrência de cinco espécies: *P. aculeatus*, *P. corneri*, *P. miniatus*, *P. substramineus* e *P. uitotanus*;

das quais as quatro primeiras são endêmicas para o país. Os táxons brasileiros ocorrem no domínio Mata Atlântica, de sul a nordeste do país, e Amazônia. A distribuição disjunta ocorre, provavelmente, devido à escassez de coletas no país e ao pouco conhecimento do gênero. Das espécies que ocorrem no Brasil, *P. substramineus* é a que mais se difere morfológicamente. *Phyllobolites substramineus* apresenta basidiomas gonfoides pequenos de cor creme e cistídios hifoides hialinos (Wartchow et al. 2017). Não foi possível obter sequências de DNA da espécie para verificar a sua posição filogenética. As outras espécies brasileiras possuem basidiomas agaricoide-gonfoides robustos de cor vibrante e gloeocistídios com conteúdo granular amarelo amarronzado. Na filogenia aqui proposta, os táxons brasileiros agruparam-se num clado mais inclusivo dentro do clado 1, apesar do baixo valor de suporte (BS = 44; BPP = 0.79). *Phyllobolites corneri* e *P. uitotanus* são filogeneticamente próximas, podendo inclusive se tratar da mesma espécie. Porém, morfológicamente diferem no tamanho e cor do basidioma, no comprimento dos basidiósporos, na pileipelis e na estipitipelis. A proximidade filogenética entre esses terminais pode indicar uma evolução recente do gênero na América do Sul ou um processo de especiação de *Phyllobolites*.

Na reconstrução de BI baseada em nucLSU, *Phyllobolites* formou um agrupamento parafiletico, surgindo em três clados. Este resultado coloca em dúvida o monofiletismo do gênero proposto no presente trabalho, baseado nas análises de mit-*atp6*, e em estudos prévios (Giachini et al. 2010). Além disso, pode indicar a presença de mais de um gênero no que estamos considerando *Phyllobolites*. Esta é uma questão que deve ser explorada, porém para isso são necessárias mais análises morfológicas, principalmente referente aos táxons do clado 2, uma análise molecular concatenada e um mapeamento de caracteres junto à hipótese filogenética, para sustentar essa discussão com maior embasamento.





**Figura 1.** Árvore filogenética representada por espécies de *Phyllobolites* e outros gêneros de Gomphales, inferida a partir de *mit-atp6*, com a topologia baseada na análise de Máxima Verossimilhança. Os valores de *bootstrap* (anterior à barra) e probabilidade posterior (posterior à barra) estão indicados nos ramos. Os nomes em negrito indicam o holótipo das espécies.

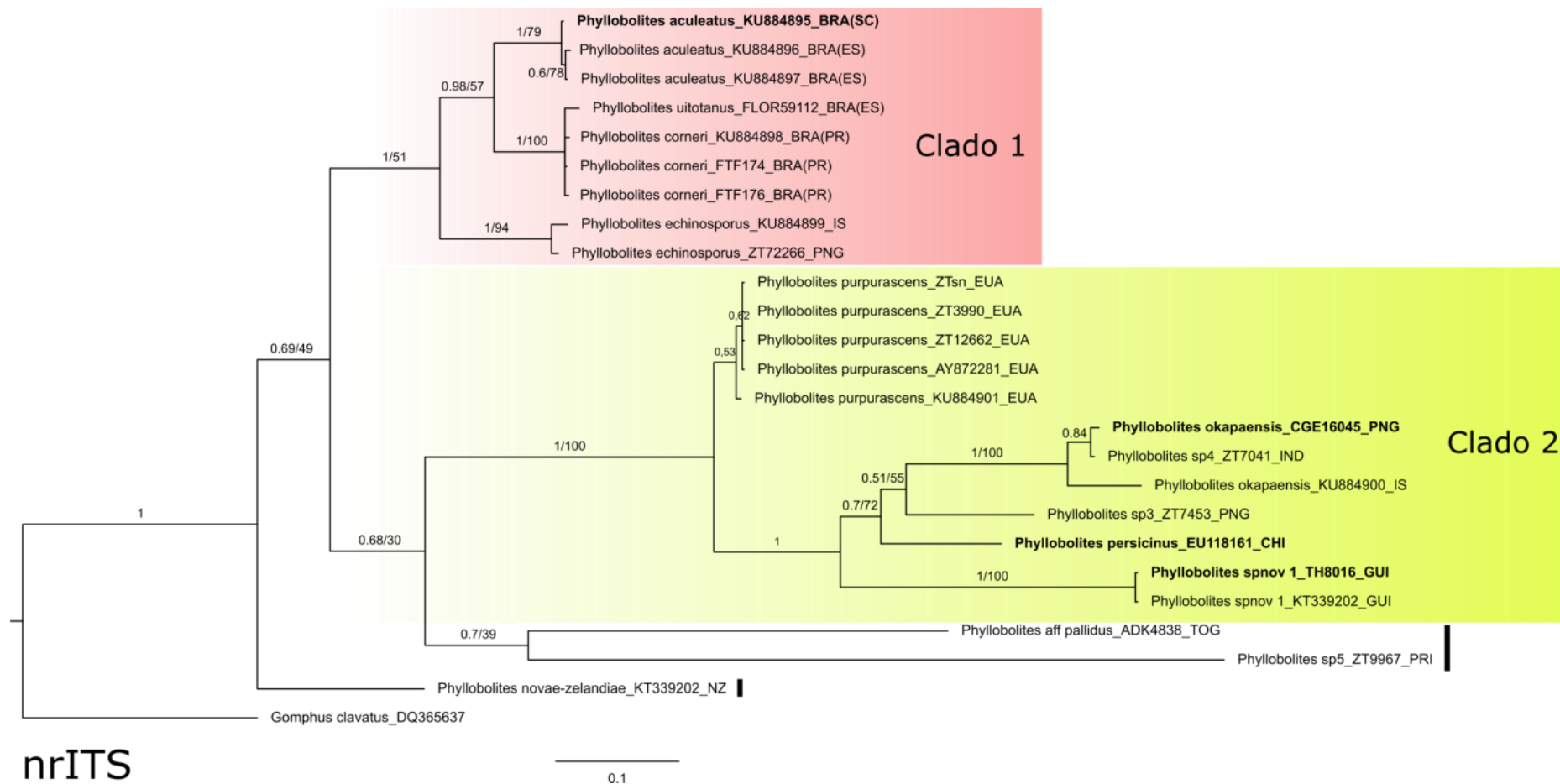


## **Agradecimentos**

Os autores agradecem aos seguintes: A.C. Magnago e P. Santos pelas coleções e fotografias *in situ*; D. Andres pelas ilustrações microscópicas; Fiocruz (Centro de Pesquisas René Rachou, Minas Gerais State) pelo sequenciamento molecular através do projeto BrBOL; PPGFAP/UFSC, CNPq (Universal Project 457489/2014-6) pelo suporte financeiro. Nós também agradecemos ao Laboratório de Polimorfismos Genéticos – Universidade Federal de Santa Catarina (A. Marrero e L. Formentão) por fornecerem o termociclador para as reações de PCR, ao Laboratório Central de Microscopia Eletrônica – Universidade Federal de Santa Catarina pelas análises em MEV e aos herbários mencionados pelos empréstimos dos espécimes (CGE, FLOR, HUA, INPA, K, PDD e ZT). Ao A. Giachini por compartilhar o seu trabalho e colaborar com a descrição de *Phyllobolites* sp. nov. 2. O primeiro autor agradece à Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação do Estado de Santa Catarina (FAPESC) por fornecer a bolsa de Mestrado.

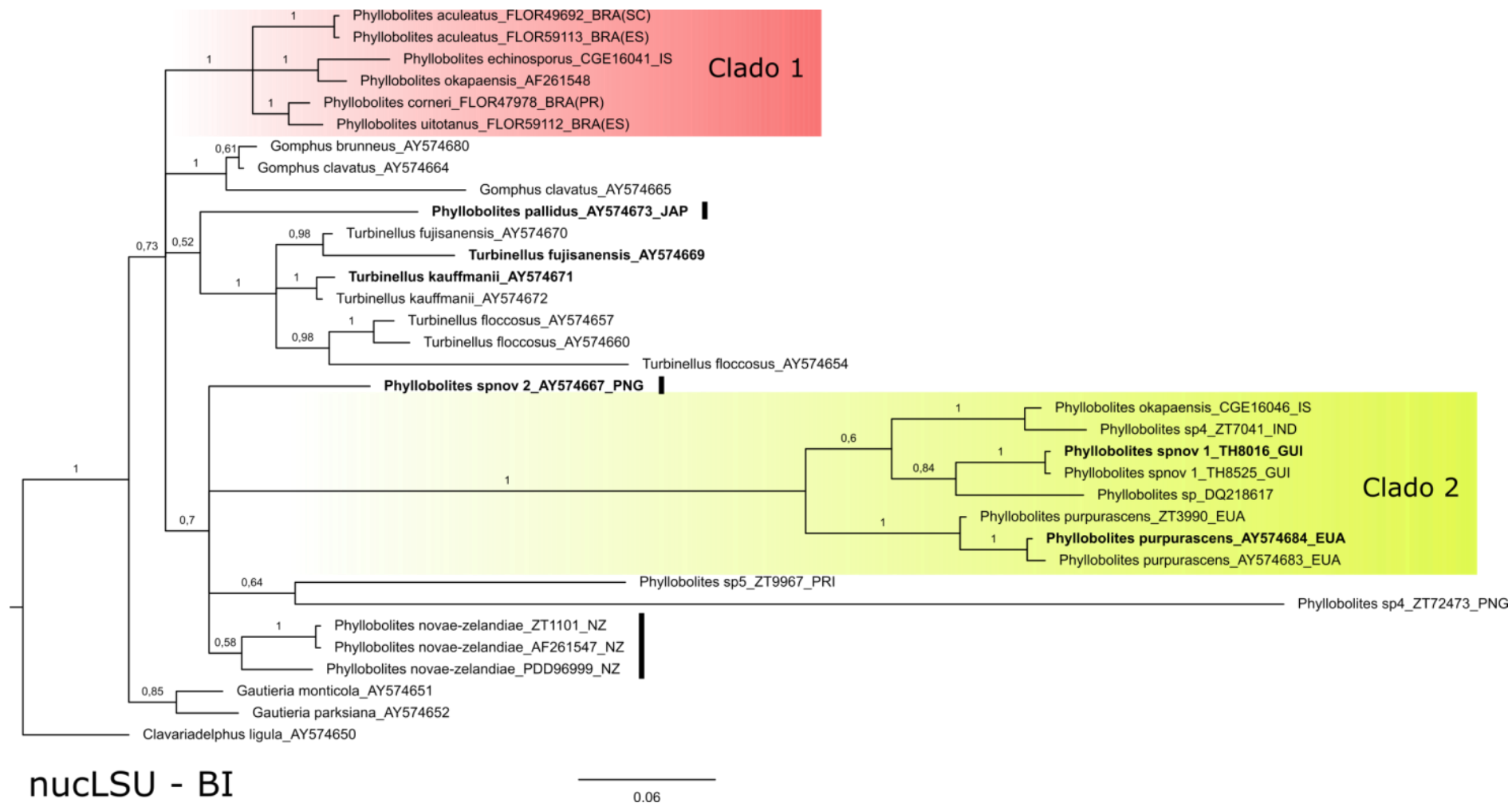


## Anexos



**Anexo 1.** Árvore filogenética representada por espécies de *Phyllobolites*, inferida a partir de nrITS, com a topologia baseada na análise de Inferência Bayesiana. Os valores de probabilidade posterior (anterior à barra) e *bootstrap* (posterior à barra) estão indicados nos ramos. Os nomes em negrito indicam o holótipo das espécies.

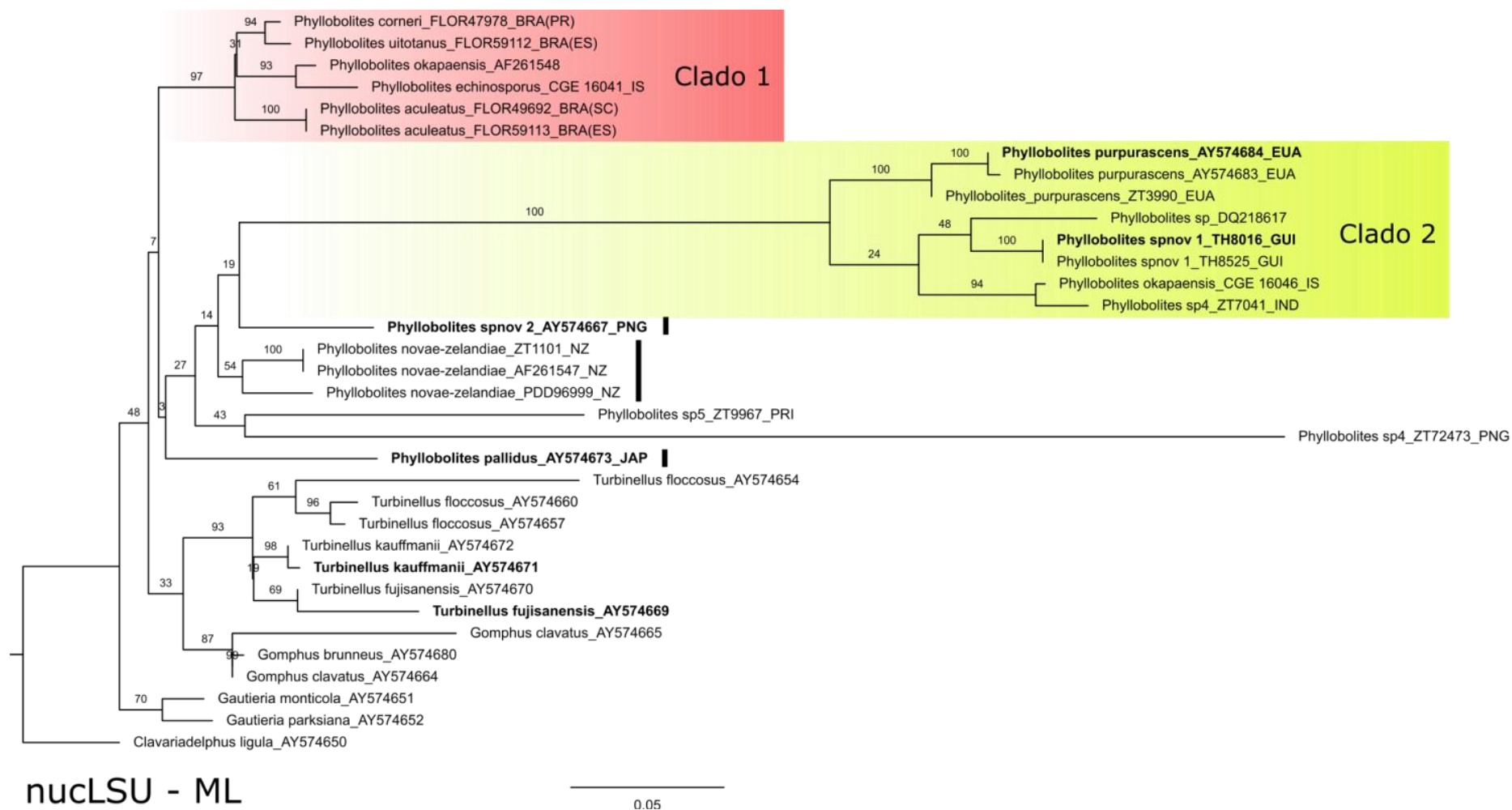




**Anexo 2.** Árvore filogenética representada por espécies de *Phyllobolites* e outros gêneros de Gomphales, inferida a partir de nucLSU, com a topologia baseada na análise de Inferência Bayesiana. Os valores de probabilidade posterior estão indicados nos ramos. Os nomes em negrito indicam o holótipo das espécies.







**Anexo 3.** Árvore filogenética representada por espécies de *Phyllobolites* e outros gêneros de Gomphales, inferida a partir de nucLSU, com a topologia baseada na análise de Máxima Verossimilhança. Os valores de *bootstrap* estão indicados nos ramos. Os nomes em negrito indicam o holótipo das espécies.



## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este trabalho representa uma importante contribuição para o estudo taxonômico de *Phyllobolites*, com a proposição da sinonimização de *Gloeocantharellus* em *Phyllobolites* a partir de dados morfológicos e de uma revisão detalhada. A união de dados morfológicos e moleculares, a partir de uma perspectiva integrativa, permitiu uma maior compreensão das relações interespecíficas do gênero e uma delimitação mais acurada das espécies.

O gênero possui distribuição predominantemente tropical, com ampla ocorrência no neotrópico, o que torna as florestas tropicais brasileiras um cenário incentivador para coletas e estudos com *Phyllobolites*. O presente trabalho ampliou a distribuição conhecida do gênero, com um novo registro para o Brasil (*P. uitotanus*), dois para a Guiana (*Phyllobolites* sp. nov. 1), um para a Indonésia, um para Papua Nova Guiné (*P. echinosporus*), um para Porto Rico e um para o Togo, sendo *Phyllobolites* aff. *pallidus* (ADK4838) o primeiro registro para o continente africano. Ampliou-se também a diversidade conhecida do gênero, com a proposição de duas novas espécies, para a Guiana e Papua Nova Guiné. Além disso, os táxons *Phyllobolites* sp3, *Phyllobolites* sp4, *Phyllobolites* sp5 e *Phyllobolites* aff. *pallidus*, incluídas nas análises moleculares, representam possíveis espécies novas. São necessárias análises morfológicas das mesmas para verificar se a morfologia corrobora com os resultados filogenéticos. Foram feitas 12 novas combinações e geradas 41 novas sequências.

*Phyllobolites* apresenta uma ampla diversidade de caracteres morfológicos, tornando a circunscrição das espécies mais detalhada e acurada e a diferenciação entre elas nítida morfológicamente.

A ornamentação dos basidiósporos se mostrou um caráter primordial na delimitação de algumas espécies. Deste modo, esse trabalho ressalta a importância das análises ultraestruturais em MEV em estudos futuros com o gênero e descrição de novos táxons, com o propósito de caracterizar de maneira detalhada a superfície dos basidiósporos, visto que a microscopia de luz nem sempre é suficiente para tal.

A presença de gloeocistídios e sua conexão estrutural com hifas gloeopleuras se mostrou informativa na relação entre as espécies, corroborando com a topologia dos cladogramas resultantes das análises moleculares. Para estudos futuros, deve-se atentar a esses caracteres na discriminação de espécies e inferências de relações entre elas.

A região mitocondrial *atp6* se mostrou um bom marcador molecular nas inferências filogenéticas de *Phyllobolites*, quanto a análise das relações entre as linhagens e a delimitação de espécies, além de ser uma região de fácil amplificação e sequenciamento. Contudo, a inclusão de marcadores nucleares em uma análise concatenada é de suma importância para aumentar a confiabilidade e melhorar a resolução dos resultados. A obtenção de sequências da região ITS, apesar de incomum em estudos com *Phyllobolites*, é importante, visto que é a região Barcoding para fungos.

A inclusão de espécimes neotropicais é um fator de destaque no presente trabalho, visto que até o momento grande parte dos estudos foram realizados com materiais asiáticos, oceânicos e norte-americanos. Esse trabalho, além de ampliar o conhecimento taxonômico e de distribuição do gênero, contribui com o conhecimento acerca da biodiversidade de fungos no Brasil, especialmente no domínio Mata Atlântica, que é reconhecido mundialmente como um *hot-spot*. Acredito que tanto a distribuição quanto a riqueza das espécies de *Phyllobolites* no Brasil estão subamostradas e que o estudo continuado em diferentes domínios brasileiros possivelmente revelará novidades científicas.

Por fim, novas análises morfológicas e moleculares concatenadas serão realizadas, bem como a elaboração de um mapeamento de caracteres, para elucidar relações interespecíficas e a presença de possíveis espécies novas, com o objetivo de produzir uma monografia detalhada do estudo taxonômico de *Phyllobolites*.

## REFERÊNCIAS

- Agerer, R.; Franz, F.; Acker, G. 1994. **The ectomycorrhizae of *Russula acrifolia*: an anatomical and ultrastructural treatise.** Mycologia Helvetica, 6: 23-48.
- Bulakh, EM; Govorova, OK. 2000. **Rare and new for Russia Basidiomycetes from primorsky territory.** Mycology and Phytopathology, 34: 21-25.
- Corner, E.J.H. 1966. **A monograph of the cantharelloid fungi.** Annals of Botany Memoir, 2: 1-255.
- Corner, E.J.H. 1969. **Notes on cantharelloid fungi.** Nova Hedwigia, 18(2-4): 783-818.
- Darriba, D.; Taboada, G.L.; Doallo, R.; Posada, D. 2012. **jModelTest 2: more models, new heuristics and parallel computing.** Nature Methods, 9(8): 772.
- Deng, C-Y.; Li, T-H. 2008. ***Gloeocantharellus persicinus*, a new species from China.** Mycotaxon, 106: 449-453.
- Dentinger, B.T.M.; Margaritescu, S.; Moncalvo, J.M. 2010. **Rapid and reliable high-throughput methods of DNA extraction for use in barcoding and molecular systematics of mushrooms.** Molecular Ecology Resources, 10: 628-633.
- Donk, M.A. 1964. **A conspectus of the families of Aphyllophorales.** Persoonia, 3(2): 199-324.
- Doyle, J.J.; Doyle, J.L. 1987. **A rapid isolation procedure for small quantities of fresh tissue.** Phytochemical Bulletin, 19: 11-15.
- Giachini, A.J. 2004. **Systematics, Phylogeny, and Ecology of *Gomphus sensu lato*.** Doutorado (Forest Science), Oregon State University, Oregon. 446 pp.
- Giachini, A.J.; Castellano, M.A. 2011. **A new taxonomic classification for species in *Gomphus sensu lato*.** Mycotaxon, 115: 183-201.

Giachini, A.J.; Hosaka, K.; Nouhra, E.; Spatafora, J.; Trappe, J.M. 2010. **Phylogenetic relationships of the Gomphales based on nuc-25S-rDNA, mit-12S-rDNA, and mit-atp6-DNA combined sequences.** *Fungal Biology*, 114: 224-234.

Góes-Neto, A.; Loguercio-Leite, C.; Guerrero, R.T. 2005. **DNA extraction from frozen field-collected and dehydrated herbarium fungal basidiomata: performance of SDS and CTAB-based methods.** *Biotemas*, 18(2): 19-32.

González-Ávila, P.A.; Luna-Vega, I.; Ríos, M.V.; Saade, R.L.; Blanco, J.C. 2013. **Current knowledge and importance of the order Gomphales (Fungi: Basidiomycota) in Mexico.** *Nova Hedwigia*, 97(1-2): 55-86.

Henkel, T.W.; Aime, M.C.; Chin, M.M.L.; Miller, S.L.; Vilgalys, R.; Smith, M.E. 2012. **Ectomycorrhizal fungal sporocarp diversity and discovery of new taxa in *Dicymbe* monodominant forests of the Guiana Shield.** *Biodiversity Conservation*, 21: 2195-2220.

Hibbett, D.S.; Bauer, R.; Binder, M.; Giachini, A.J.; Hosaka, K.; Justo, A.; Larsson, E.; Larsson, K.H.; Lawrey, J.D.; Miettinen, O.; Nagy, L.G.; Nilsson, R.H.; Weiss, M.; Thorn, R.G. 2014. **Agaricomycetes.** *The Mycota, Systematics and Evolution*, 2<sup>a</sup> ed., 7A: 373-429.

Hosaka, K.; Bates, S.T.; Beever, R.E.; Castellano, M.A.; Colgan, W.; Domínguez, L.S.; Nouhra, E.R.; Geml, J.; Giachini, A.J.; Kenney, S.R.; Simpson, N.B.; Spatafora, J.W.; Trappe, J.M. 2006. **Molecular phylogenetics of the gomphoid-phalloid fungi with an establishment of the new subclass Phallomycetidae and two new orders.** *Mycologia*, 98(6): 949-959.

Joseph, A.V.; Manimohan, P. 1998. **Rediscovery of two rare agaricoid basidiomycetes.** *Mycological Research*, 102(4): 476-478.

Katoh, K.; Standley, D.M. 2013. **MAFFT multiple sequence alignment software version 7: improvements in performance and usability.** *Molecular Biology and Evolution*, 30: 772-780.

Kearse, M.; Moir, R.; Wilson, A.; Stones-Havas, S.; Cheung, M.; Sturrock, S.; Buxton, S.; Cooper, A.; Markowitz, S.; Duran, C.; Thierer,

T.; Ashton, B.; Mentjies, P.; Drummond, A. 2012. **Geneious Basic: an integrated and extendable desktop software platform for the organization and analysis of sequence data**. *Bioinformatics*, 28(12): 1647-1649.

Kornerup, A.; Wanscher, J. 1983. **Methuen handbook of colour**. 3<sup>rd</sup> ed. Eyre Methuen. London. 252 pp.

Kramer, L.A. 2004. **The online auction color chart**. Online Auction Color Chart Company, Stanford. 12 pp.

Kretzer, A.M.; Bruns, T.D. 1999. **Use of *atp6* in Fungal Phylogenetics: An Example from the Boletales**. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 13(3): 483-492.

Largent, D.L. 1986. **How to Identify Mushrooms to Genus I: Macroscopic Features**. 2<sup>a</sup> ed. Mad River Press Inc., Eureka, 166 pp.

Largent, D.L.; Johnson, D.; Watling, R. 1977. **How to identify mushrooms to genus III: microscopic features**. 3<sup>a</sup> ed. Mad River Press Inc., Eureka.

Larsen, M.J.; Burdsall, H.H. 1976. **A consideration of the term *gloeocystidium***. *Memoirs of the New York Botanical Garden*, 28(1): 123-130.

Linhares, F.T.F.; Reck, M.A.; Daniëls, P.P.; Neves, M.A. 2016. ***Gloeocantharellus aculeatus* (Gomphaceae), a new neotropical species in the gomphoid-phalloid clade**. *Phytotaxa*, 268(3): 193-202.

Lloyd, C.G. 1917. **Index of the Mycological Writings of C.G. Lloyd**. *Mycological Notes*, 47: 654-668.

McNeill, C.J.; Barrie, F.R.; Buck, W.R.; Demoulin, V.; Greuter, W.; Hawksworth, D.L.; Herendeen, P.S.; Knapp, S.; Marhold, K.; Prado, J.; Prud'homme Van Reine, W. F.; Smith, G. F.; Wiersma, J. H.; Members N.J. Turland; Secretary of the Editorial Committee. 2012. **International Code of Nomenclature for algae, fungi, and plants (Melbourne Code), adopted by the Eighteenth International Botanical Congress Melbourne, Australia, July 2011**. *Regnum Vegetabile* 154. Koeltz Scientific Books.

Miller, M.A.; Pfeiffer, W.; Schwartz, T. 2010. **Creating the CIPRES science gateway for inference of large phylogenetic trees**. Em Proceedings of the Gateway Computing Environments Workshop (GCE). New Orleans, Louisiana, 1-8.

Moncalvo, J.M.; Lutzoni, F.M.; Rehner, S.A.; Johnson, J.; Vilgalys, R. 2000. **Phylogenetic relationships of agaric fungi based on nuclear large subunit ribosomal DNA sequences**. Systematic Biology, 49: 278-305.

Nuhn, M.E.; Binder, M.; Taylor, A.F.S.; Halling, R.E.; Hibbett, D.S. 2013. **Phylogenetic overview of the *Boletineae***. Fungal Biology, 117(7-8): 479-511.

Pegler, D.N. 1986. **Agaric Flora of Sri Lanka**. Kew Bulletin Additional Series, 12: 456.

Pegler, D.N.; Young, T.W.K. 1971. **Basidiospore morphology in the Agaricales**. J. Cramer, Lehre.

Petch, T. 1909. **New Ceylon Fungi**. Annals of the Royal Botanic Gardens of Peradeniya, 4(5): 299-307.

Petch, T. 1917. **Additions to Ceylon Fungi**. Annals of the Royal Botanic Gardens of Peradeniya, 6(3): 195-256.

Petersen, R.H. 1968. **Notes on cantharelloid fungi I. *Gomphus* S. F. Gray and some clues to the origin of ramarioid fungi**. Journal of the Elisha Mitchell Scientific Society, 84: 373-381.

Petersen, R.H. 1971. **The genera *Gomphus* and *Gloeocantharellus* in North America**. Nova Hedwigia, 21: 1-118.

Pine, E.M.; Hibbett, D.S.; Donoghue, M.J. 1999. **Phylogenetic relationships of cantharelloid and clavarioid Homobasidiomycetes based on mitochondrial and nuclear rDNA sequences**. Mycologia, 91(6): 944-963.

Rick, J. 1906. **Pilze Aus Rio Grande do Sul**. Brotéria, Revista de Ciências Naturaes, 5: 5-53.



- Ronquist, F.; Huelsenbeck, J.P. 2003. **MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models**. *Bioinformatics*, 19: 1572-1574.
- Roy, M.; Schimann, H.; Braga-Neto, R.; Da Silva, R.A.E.; Duque, J.; Frame, D.; Wartchow, F.; Neves, M.A. 2016. **Diversity and distribution of ectomycorrhizal fungi from Amazonian lowland white-sand forests in Brazil and French Guiana**. *Biotropica*, 48(1): 90-100.
- Sambrook, J.; Fritsch, E.F.; Maniatis, T. 1989. **Molecular Cloning: A Laboratory Manual**. 2<sup>a</sup> ed. Vol. 1, 2 e 3. Cold Spring harbor Laboratory Press. Cold Spring harbor, New York, USA, 1828 pp.
- Sayers, E.W.; Barrett, T.; Benson, D.A.; Bryant, S.H.; Canese, K.; Chetvernin, V.; Church, D.M.; DiCuccio, M.; Edgar, R.; Federhen, S.; Feolo, M.; Geer, L.Y.; Helmberg, W.; Kapustin, Y.; Landsman, D.; Lipman, D.J.; Madden, T.L.; Maglott, D.R.; Miller, V.; Mizrachi, I.; Ostell, J.; Pruitt, K.D.; Schuler, G.D.; Sequeira, E.; Sherry, S.T.; Shumway, M.; Sirotkin, K.; Souvorov, A.; Starchenko, G.; Tatusova, T.A.; Wagner, L.; Yaschenko, E.; Ye, J. 2009. **Database resources of the National Center for Biotechnology Information**. *Nucleic Acids Research*, 37: D5-D15.
- Schneider, C.A.; Rasband, W.S.; Eliceiri, K.W. 2012. **NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis**. *Nature Methods*, 9(7): 671-675.
- Segedin, B.P. 1984. **Two new species of *Gomphus* Pers. (Aphyllophorales) from New Zealand**. *New Zealand Journal of Botany*, 22(4): 533-537.
- Singer, R. 1942. **Das System der Agaricales. II**. *Annales Mycologici*, 40(1/2): 1-132.
- Singer, R. 1945. **New genera of fungi-II**. *Lloydia*, 8(3): 140.
- Singer, R. 1947. **Coscinoids and coscinocystidia in *Linderomyces lateritius***. *Farlowia*, 3(2): 155-157.

Singer, R. 1961. **Two genera of fungi new for South America.** *Vellozia*, 1: 14.

Singer, R. 1981. **New genera of Agaricales.** *Mycologia*, 73(3): 500-510.

Singer, R; Araujo, I; Ivory, MH. 1983. **The Ectotrophically Mycorrhizal Fungi of the Neotropical Lowlands, Especially Central Amazonia.** *Beihefte Zur Nova Hedwigia*, 77: 17.

Smith, A.H.; Hesler, L.R. 1943. **New and interesting Agarics from Tennessee and North Carolina.** *Lloydia*, 6(4): 248-266.

Stalpers, J.A. 1996. **The aphylophoraceous fungi II. Keys to the species of the Hericiales.** *Studies in Mycology*, 40: 1-185.

Stamatakis, A. 2014. **RAxML Version 8: A tool for Phylogenetic Analysis and Post-Analysis of Large Phylogenies.** *Bioinformatics*, 30(9): 1312-1313.

Sulzbacher, M.A.; Grebenc, T.; Jacques, R.J.S.; Antonioli, Z.I. 2015. **Ectomycorrhizal fungi from southern Brazil – a literature-based review, their origin and potential hosts.** *Mycosphere*, 4(1): 61-95.

Tamura, K.; Stecher, G.; Peterson, D.; Filipinski, A.; Kumar, S. 2013. **MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 6.0.** *Molecular Biology and Evolution*, 30: 2725-2729.

Tanney, J.B.; Hutchison, L.J. 2011. **Encapsulation and immobilization of a mycophagous nematode by two *Sphaerobolus* species.** *Botany*, 89: 745-751.

Thiers, B. (atualizado continuamente). **Index Herbariorum: a global directory of public herbaria and associated staff.** New York Botanical Garden's Virtual Herbarium. Disponível em: <<http://sweetgum.nybg.org/ih/>>

Vasco-Palacios, A.M.; Franco-Molano, A.E. 2005. **A new species of *Gloeocantharellus* (Fungi-Basidiomycetes) from Colombian Amazonia.** *Mycotaxon*, 91: 87-92.

Villegas, M.; Cifuentes, J.; Estrada-Torres, A. 2005. **Sporal characters in *Gomphales* and their significance for phylogenetics**. Fungal Diversity, 18: 157-175.

Villegas, M.; Cifuentes, J.; Estrada-Torres, A.; Kong, A. 2010. **The genus *Gomphus* in tropical and subtropical zones of Mexico**. Nova Hedwigia, 90(3-4): 491-501.

Wartchow, F.; Sá, M.C.A.; Coimbra, V.R.M. 2017. **A new species of *Gloeocantharellus* from the Atlantic Forest of Paraíba, Brazil**. Current Research in Environmental & Applied Mycology, 7(3): 183-186.

Watling, R.; De Meijer, A.R. 1997. **Macromycetes from the state of Paraná, Brazil**. Edinburgh Journal of Botany, 54(2): 231-251.