

Gisele Scheibler

**SISTEMÁTICA DE *AMANITA* PERS. (AMANITACEAE, BASIDIOMYCOTA)  
NO BRASIL**

Dissertação submetida ao Programa de pós-graduação em Biologia de Fungos, Algas e Plantas da Universidade Federal de Santa Catarina para obtenção do Grau de Mestre em Biologia de Fungos, Algas e Plantas.

Orientadora: Profa. Dra. Maria Alice Neves

Florianópolis  
2019

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

Scheibler, Gisele

Sistemática de Amanita Pers. (Amanitaceae,  
Basidiomycota) no Brasil / Gisele Scheibler ;  
orientadora, Maria Alice Neves, 2019.

176 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de  
Santa Catarina, Centro de Ciências Biológicas,  
Programa de Pós-Graduação em Biologia de Fungos,  
Algas e Plantas, Florianópolis, 2019.

Inclui referências.

1. Biologia de Fungos, Algas e Plantas. 2.  
Sistemática. 3. Amanita. 4. Taxonomia. 5.  
Filogenia. I. Neves, Maria Alice. II. Universidade  
Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação  
em Biologia de Fungos, Algas e Plantas. III. Título.

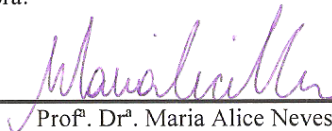
**“Sistemática de *Amanita Pers.* (Amanitaceae,  
Basidiomycota) no Brasil”**

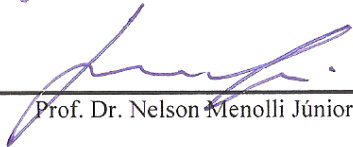
por

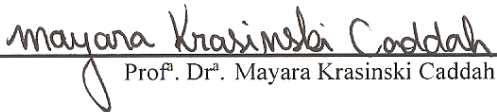
**Gisele Scheibler**


Dissertação julgada e aprovada em sua forma final pelos membros titulares da Banca Examinadora (Port. 02/PPGFAP/2019) do Programa de Pós-Graduação em Biologia de Fungos, Algas e Plantas - UFSC, composta pelos Professores Doutores:

Banca Examinadora:

  
Prof.<sup>a</sup>. Dr.<sup>a</sup>. Maria Alice Neves

  
Prof. Dr. Nelson Menolli Júnior

  
Prof.<sup>a</sup>. Dr.<sup>a</sup>. Mayara Krasinski Caddah

  
Prof. Dr. Pedro Fiaschi  
Coordenador do Programa de Pós-Graduação  
em Biologia de Fungos, Algas e Plantas

Florianópolis, 29 de março de 2019.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço imensamente à minha família, meus pais Noeli e Jorge por todo o amor, apoio, incentivo e "paitrocínio" que sempre me deram para estudar. Por toda paciência e compreensão acerca das minhas dúvidas, desejos, distâncias, compromissos e saudades que enfrentamos há alguns anos. Com amor, muito obrigada! Esse trabalho é para vocês.

À minha orientadora Maria Alice, rainha dos fungos, por me acolher, confiar e ensinar. Por me mostrar muitas vezes que as coisas não são tão difíceis quanto podem parecer. Pela empolgação, paciência e valores de humildade. Sou sua fã.

Ao Gustavo Flores, irmão gêmeo que descobri com o mestrado. Obrigada por ter feito este trabalho comigo (dissertação conjunta de "*Leptonita*"). Você tornou tudo mais divertido e menos "tcholas". Obrigada pela parceria de coletas, rolês, discussões, saunas no Laboratório de Molecular, croissants de chocolate, microscopia, fofocas, perrengues... tudo, tudo. Você esteve presente em todas as etapas. Vou sentir muita saudade.

Ao Altielys Magnago, por ter me inserido no mundo dos fungos e das amanitas lá em 2014. Você foi meu primeiro orientador e quem me fez querer ficar na micologia. Ao Genivaldo Alves da Silva por ter me ensinado muita coisa sobre molecular e filogenia enquanto eu ainda estava na graduação na UFRGS.

Aos micolabianos todinhos! Vocês foram minha família ao longo desses dois anos. Obrigada pela acolhida, conversas, risadas e discussões regadas a café e cerveja. Ao Felipe, o Tom do meu Jerry, por compartilhar tanto conhecimento comigo ao longo do mestrado; tua parceria foi importantíssima para a conclusão deste trabalho. À Duda, serumaninho que me aturou nos momentos de "Gisele: a Bela e a Fera". À Júlia Simon e a Susanne Sourell, por terem me trazido tantas amanitas lindas da Amazônia. Por todos os alvoroços no Micolab. Vou sentir saudades de vocês, micopeople!

Ao Rodham Tulloss, meu novo ídolo!, pela incrível plataforma Amanitaceae.org, pela pesquisa impecável e seu amor pelas amanitas. Sou sua nova filha.

Ao Rodolfo, aquele que faz meu coração bater mais forte, por sempre me incentivar e por compreender minha ausência física devido aos tantos quilômetros que nos separaram durante esses dois anos.

À CAPES, pela bolsa de financiamento e a toda estrutura do PPGFAP. À todas as pessoas que direta ou indiretamente me propiciaram estudar em uma universidade pública mais uma vez.

A todos que passaram pelo meu caminho: obrigada, obrigada!

#RespiraFungo #Funga



## RESUMO

O gênero *Amanita* é caracterizado por possuir em sua maioria espécies com basidiomas de desenvolvimento esquizohiménial, pileados estipitados, com lamelas de inserção livre e de coloração clara, presença de volva e ocasionalmente de escamas e anel. Possui ampla distribuição mundial com mais de 500 espécies bem delimitadas taxonomicamente além de ser amplamente conhecido por realizar associações ectomicorrízicas. Possui representantes apreciados na culinária e também espécies tóxicas e/ou alucinógenas, como por exemplo a popular *Amanita muscaria* (L.) Lam. Vinte e seis espécies do gênero foram registradas em nove estados do Brasil, contudo, sabe-se que esta distribuição não condiz com a real ocorrência das espécies no país. Este trabalho apresenta aspectos morfológicos e filogenéticos de espécimes de *Amanita* coletados em áreas de Mata Atlântica e Floresta Amazônica brasileira entre os anos de 2012 e 2018. Foram revisados morfológicamente 67 espécimes identificados em 17 espécies e obtidas 31 sequências de DNA da região ITS e duas da região LSU. Essas análises demonstraram a existência de 10 espécies novas para a ciência, um novo registro para o Brasil e seis novas ocorrências para os estados de Santa Catarina e Espírito Santo. Este é o primeiro estudo com análises filogenéticas de espécies de *Amanita* ocorrentes no Brasil. Além disso, constam neste trabalho descrições morfológicas, ilustrações das micro estruturas, imagens macroscópicas e chaves de identificação das espécies. Devido à subamostragem em outros biomas e da escassez de sequências de DNA de espécimes de *Amanita* que ocorrem no país, sugere-se a continuidade e a importância de estudos deste tipo em regiões tão biodiversas como o Brasil.

**Palavras-chave:** Agaricales. Floresta Amazônica. Mata Atlântica. Filogenia. ITS. Taxonomia. Diversidade.

## ABSTRACT

The genus *Amanita* is characterized by having mostly basidiomas with schizohymial development schizohymenial, whit cap, stipe, free and pale lamellae, volva and occasionally scales and annulus. It has a wide world distribution with more than 500 species well taxonomically delimited besides being widely known to hosting ectomycorrhizal associations. It has representatives appreciated in cooking and also toxic and/or hallucinogenic species, such as the popular *Amanita muscaria* (L.) Lam. Twenty six species of this genus were recorded in nine Brazilian states, however, it is known that this distribution does not correspond to the actual occurrence of the species. This work presents morphological and phylogenetic aspects of *Amanita* specimens collected in areas of Atlantic Forest and Brazilian Amazon Forest between the years of 2012 and 2018. Sixty-seven specimens were morphologically reviewed, identified in 17 species and 31 DNA sequences from the ITS region and 2 from the LSU region were obtained. These analyzes demonstrated the existence of 10 new species for science, one new record for Brazil and six new occurrences for the states of Santa Catarina and Espírito Santo. This is the first study with phylogenetic analyzes of species of the group occurring in Brazil. In addition, morphological descriptions, illustrations of microstructures, macroscopic images and identification keys of the species are included in this work. Due to the sub-sampling of other biomes and the scarcity of DNA sequences of Brazilian *Amanita* specimens, the continuity and importance of such studies in regions as biodiverse as Brazil is suggested.

**Keywords:** Agaricales. Amazon Rainforest. Atlantic Forest. Phylogeny. ITS. Taxonomy. Diversity.





## SUMÁRIO

<b>APRESENTAÇÃO</b> .....	11
<b>INTRODUÇÃO</b> .....	11
<b>OBJETIVOS</b> .....	17
Objetivo geral: .....	17
Objetivos específicos: .....	17
<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	19
Amostragem e análise dos materiais .....	19
Análises moleculares .....	20
<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	22
<b>CAPÍTULO I</b> – <i>Amanita</i> Pers. seção <i>Vaginatae</i> (Fr.) Quéll. ocorrentes do Brasil .....	30
<b>CAPÍTULO II</b> – Novas espécies e ocorrências de <i>Amanita</i> Pers. das seções <i>Amanita</i> , <i>Lepidella</i> , <i>Phalloideae</i> e <i>Validae</i> no Brasil .....	74
<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	121
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	123
<b>ANEXOS</b> .....	128

## APRESENTAÇÃO

Este trabalho está dividido em resultados gerais e em dois capítulos apresentados em formato de artigo. O primeiro capítulo aborda as espécies de *Amanita* seção *Vaginatae* e o segundo capítulo descreve novas espécies para as demais seções de *Amanita*.

Esta é a versão final da dissertação e os capítulos ainda serão aprimorados e alguns materiais sequenciados novamente para então submissão dos artigos em revistas científicas.

## INTRODUÇÃO

*Amanita* Pers. é um dos gêneros de Agaricales Underw. mais conhecidos em Basidiomycota. O gênero compreende cerca de 500 espécies relativamente bem delimitadas (Kirk et al. 2008). Há autores, como Bas (2000) e Tulloss (2005), que estimam que *Amanita* contenha até 1000 espécies distribuídas mundialmente.

O gênero foi descrito pela primeira vez em 1719 por Dillenius, que utilizou o termo *Amanita* para descrever uma espécie de *Agaricus* L., sendo essa espécie validada por Boehmer no ano de 1760. Em 1797 Persoon separou espécies do gênero *Agaricus* com volva friável e membranácea, realocando-as para *Amanita*, ficando a autoria do gênero atribuída a Persoon (Bas 1969).

Persoon dividiu *Amanita* em três grupos de acordo com características da volva, anel e escamas (Bas 1969). Desde então, *Amanita* vem sofrendo diversas modificações de circunscrição em nível de gênero, subgênero, seções e grupos por diferentes autores – como Corner & Bas (1962), Gilbert (1918), Singer (1986), Veselý (1933), entre outros, que utilizaram caracteres morfológicos, químicos, ecológicos e, mais recentemente, moleculares (Yang 1997), para os rearranjos sistemáticos nomenclaturais.

Macromorfologicamente o gênero se caracteriza por apresentar, em sua maioria, espécies com basidiomas pileado estipitados, com himenóforo lamelar de coloração branca a creme, lamelas livres a levemente adnexas e, quando presentes, formatos diversos de remanescentes do véu universal e parcial (Bas 1969). O desenvolvimento

do basidioma é do tipo esquizohiménial, no qual todas as estruturas se desenvolvem a partir de um primórdio sólido que se rompe a partir da sua senescência (Bas 1969). O gênero ainda inclui espécies de hábito sequestrado, epígeas e hipógeas registradas para a Austrália, região Mediterrânea (Justo et al. 2010) e recentemente para as Américas, na Argentina (Truong et al. 2017).

Micromorfológicamente os basidiósporos de *Amanita* são hialinos, geralmente de parede lisa e fina, os basídios são tetrasporados, o contexto do himênio é bilateral divergente, há a presença de hifas infladas denominadas acrofisáides no contexto do píleo, do himênio e do estipe, a superfície do píleo pode variar de cútis a ixotricodermatizada gelatinizada (também referida como ixocútis) e não há presença de cistídios (Bas 1969, Singer 1986), com exceção de *Amanita cystidiosa* O.K. Mill. & Lodge que apresenta queilocistídios (Miller et al. 2000). Uma das características químicas de importância taxonômica para a delimitação dos subgêneros de *Amanita* é a reação de amiloidia dos basidiósporos quando expostos ao reagente de Melzer (Weiß et al. 1998).

O gênero vem sofrendo diferentes rearranjos de subgênero e seções devido a fatores morfológicos e moleculares. Corner & Bas (1962) fizeram a primeira divisão do gênero *Amanita* em dois subgêneros e seis seções: *Amanita* subgênero *Amanita* (abrangendo *Amanita* seção *Amanita* e *Amanita* seção *Vaginatae*) e *Amanita* subgênero *Lepidella* (com *Amanita* seção *Amidella*, *Amanita* seção *Lepidella*, *Amanita* seção *Phalloideae* e *Amanita* seção *Validae*). Yang (1997) por meio de caracteres morfológicos acrescentou mais uma seção a *Amanita* subgênero *Amanita*, chamando-a de *Amanita* seção *Caesareae*, já sugerida na divisão feita anteriormente por Singer (1986). Em 1998 a hipótese de Corner & Bas (1962) juntamente com a de Yang (1997) foi corroborada por análises moleculares com um bom suporte e, devido a isso, é a classificação utilizada neste trabalho, sendo ela: *Amanita* subgênero *Amanita* (*Amanita* seção *Amanita*, *Amanita* seção *Caesareae* e *Amanita* seção *Vaginatae*) e *Amanita* subgênero *Lepidella* (*Amanita* seção *Amidella*, *Amanita* seção *Lepidella*, *Amanita* seção *Phalloideae* e *Amanita* seção *Validae*).

Outra modificação circunscricional do gênero, foi recentemente sugerida por Vizzini et al. (2012) ao cunhar o nome *Aspidella* E.-J. Gilbert para representantes de *Amanita* subseção *Vitaddiniae* Bas (inserida em *Amanita* seção *Lepidella*). Contudo, Redhead et al. (2016) consideraram

*Aspidella* inadequado por esse nome estar associado a organismos fósseis extintos e não claramente delimitados, com reino designado como *Incertae sedis*. Estes sugeriram, então, realocar os representantes de *Aspidella* em um novo gênero chamado *Saproamanita* Redhead, Vizzini, Drehmel & Contu. *Saproamanita* inclui 24 espécies saprofiticas de hábito amanitoide e separa de *Amanita*, que contém apenas espécies ectomicorrízicas. Redhead et al. (2016) ainda determinaram a divisão de *Amanita* em dois subgêneros: *Amanita* subgênero *Amanita* – com *A. muscaria* como espécie tipo – e *Amanita* subgênero *Amanitina* – com *Amanita phalloides* (Vaill. ex Fr.) Link como espécie tipo.

Tulloss et al. (2016) discordaram da divisão de *Amanita* em dois subgêneros devido principalmente à ontogenia esquizohiménial – única sinapomorfia do grupo. Esses autores seguem a divisão do gênero em *Amanita* subgênero *Amanita* e *Amanita* subgênero *Lepidella*, adotada nesta dissertação. Também comentaram que estudos moleculares não inferem a necessidade da divisão do gênero, e que isso apenas dificultaria a compreensão da literatura disponível. Tulloss et al. (2016), além disso, salientam a carência de caracteres morfológicos para distinguir os grupos sugeridos, reiterando que *Saproamanita* possa apresentar um grau de parafiletismo em invés de formar um clado.

Seguindo, portanto, a circunscrição de Corner & Bas (1962), Bas (1969), Yang (1997) e Weiß et al. (1998) o gênero é dividido em dois subgêneros em razão da amiloidia dos basidiósporos: quando inamiloides pertencem a *Amanita* subgênero *Amanita* e quando amiloides a *Amanita* subgênero *Lepidella*.

Dentro de *Amanita* subgênero *Amanita*, a seção *Amanita* é caracterizada por apresentar o estipe com base bulbosa, devido ao posicionamento excêntrico acima no primórdio. Já *Amanita* seção *Caesareae* possui exemplares com basidioma posicionado centralmente no primórdio, resultando em um estipe não bulboso, presença de uma volva bem desenvolvida, frequente presença de anel e presença de fíbulas. *Amanita* seção *Vaginatae* possui estipe cilíndrico com base não bulbosa assim como *Amanita* seção *Caesareae*, contudo, nessa seção as fíbulas são ausentes (Cui et al. 2018, Oda et al. 1999, Tullos & Yang 2019).

Em *Amanita* subgênero *Lepidella*, *Amanita* seção *Amidella* é caracterizada por possuir as escamas membranáceas, floculosas ou pulverulentas, volva sacada membranosa e himenóforo se tornando marrom quando desidratado. *Amanita* seção *Lepidella* possui basidiomas

de tamanhos variáveis, geralmente de coloração pálida, com margem do píleo apendiculada e anel friável. *Amanita* seção *Phalloideae* possui volva e anel bem desenvolvidos e escamas geralmente ausentes. Já as características da seção *Validae* são volva pouco desenvolvida, sendo pulverulenta ou quebrando na base do estipe e presença de pigmentos na superfície do píleo (Corner & Bas 1962, Oda et al. 1999).

*Amanita* ocorre predominantemente em florestas secundárias ectotróficas, devido às interações ectomicorrízicas que realiza. No hemisfério norte é frequentemente registrada em florestas temperadas de coníferas, um dos simbiontes fototróficos que formam esse tipo de associação. Algumas espécies consideradas não nativas dos domínios fitogeográficos brasileiros, como *Amanita muscaria* (L.) Lam. e *Amanita rubescens* Pers., são comumente encontradas crescendo em plantações exóticas de *Pinus* L. e *Castanea sativa* Mill., principalmente na região sul do país onde essas plantas foram introduzidas em grandes áreas para produção de papel e celulose.

Apesar de na Lista Flora do Brasil 2020 (Algas, Fungos e Plantas) constarem apenas 16 espécies de *Amanita* (incluindo as espécies consideradas introduzidas), há o registro na literatura científica de 26 espécies distribuídas em 10 estados brasileiros (Tabela 1). Os estados com o maior número de registro de espécies do gênero são Amazonas e Rio Grande do Sul. As espécies mais citadas para o país são *Amanita crebresulcata* Bas que possui registros geográficos disjuntos e *Amanita muscaria*, espécie introduzida.

Os estudos taxonômicos do grupo no Brasil se concentram principalmente nas regiões norte, nordeste e sul, sendo todos estudos de cunho morfológico. Esses estudos foram realizados por pesquisadores como Rick (1906; 1960), Bas (1978), Meijer (2001; 2006), Pegler (1997), Giachini et al. (2000; 2004), Menolli et al. (2009) e Wartchow et al. (2007; 2009; 2012), e geraram informações imprescindíveis quanto à localização e novidades científicas do grupo. Por meio desses estudos são notadas lacunas quanto à distribuição geográfica do gênero e até mesmo de certas espécies como *Amanita campinaranae* Bas registrada para a Amazônia e Rio Grande do Sul, *Amanita coacta* Bas citada para a Amazônia e São Paulo e *A. crebresulcata*, ocorrendo de forma bastante disjunta, com registros para a Amazônia, Paraíba, Pernambuco e Paraná (Tabela 1). Sabe-se que essa distribuição não condiz com a real ocorrência do gênero no país pois há diversas regiões sub-amostradas, com registro

das espécies de acordo com áreas de interesse dos pesquisadores do grupo.

**Tabela 1.** Espécies de *Amanita* citadas para o Brasil. Referências correspondentes a primeira citação da espécie para o estado.

ESPÉCIE	ESTADO	REFERÊNCIA
<i>Amanita aliena</i> Wartchow & Cortez	Rio Grande do Sul	Wartchow & Cortez 2016
<i>Amanita ameghinoi</i> (Speg.) Singer *	São Paulo	Pegler 1997
<i>Amanita aureofloccosa</i> Bas *#	Rio Grande do Sul	Wartchow et al. 2015
<i>Amanita campinaranae</i> Bas	Amazonas	Bas 1978
<i>Amanita chrysoleuca</i> Pegler	Paraná	Meijer 2006
<i>Amanita coacta</i> Bas	Amazonas, São Paulo (como <i>A. crebresulcata</i> Bas)	Bas 1978; Grandi et al. 1984
<i>Amanita craseoderma</i> Bas	Amazonas, Rondônia	Bas 1978; Capelari & Maziero 1988
<i>Amanita crebresulcata</i> Bas	Amazonas, Paraná, Paraíba; Pernambuco	Bas 1978; Meijer 2006; Magnago et al. 2015; Wartchow & Maia 2007
<i>Amanita dulciodora</i> C.C.Nascimento, Sá & Wartchow	Bahia	Nascimento et al. 2018
<i>Amanita excelsa</i> (Fr.) Bertill. como <i>A. spissa</i> (Fr.) P. Kumm.	Rio Grande do Sul	Rick 1906
<i>Amanita grillipes</i> Bas & de Meijer *	Paraná; Rio Grande do Sul	Meijer 2006; Rick 1906 (como <i>A. spissa</i> var. <i>laeta</i> )
<i>Amanita lanivolva</i> Bas	Amazonas	Bas 1978
<i>Amanita lilloi</i> Singer *	Pernambuco	Wartchow et al. 2007
<i>Amanita lippiae</i> Wartchow & Tulloss	Pernambuco	Wartchow et al. 2009

<i>Amanita muscaria</i> (L.) Lam.		Paraná; Rio Grande do Sul; Santa Catarina; São Paulo	Meijer 2001; Homrich 1965; Giachini et al. 2000; Fosco- Mucci & Yokomizo 1985
<i>Amanita pantherina</i> (DC.) Krombh.		Santa Catarina	Giachini et al. 2000
<i>Amanita petalinovola</i> Warchow [as 'petalinovola']		Rio Grande do Sul	Warchow et al. 2012
<i>Amanita phaea</i> Bas		Amazonas	Bas 1978
<i>Amanita psammolimbata</i> Warchow & Sulzbacher		Rio Grande do Norte	Warchow et al. 2015
<i>Amanita rubescens</i> Pers.		Rio Grande do Sul	Sobestiansky 2005
<i>Amanita strobiliformis</i> (Paulet ex Vittad.) Bertill.		Rio Grande do Sul	Rick 1930
<i>Amanita sulcatissima</i> Bas		Amazonas	Bas 1978
<i>Amanita tenacipulvis</i> Warchow		Amazonas	Warchow 2015
<i>Amanita viridissima</i> Warchow		Bahia	Warchow 2016
<i>Amanita viscidolutea</i> Menolli, Capelari & Baseia		Paraíba; Rio Grande do Norte	Warchow et al. 2012; Menolli et al. 2009
<i>Amanita xerocybe</i> Bas		Amazonas	Bas 1978

\* Espécies designadas no gênero *Saproamanita* Redhead, Vizzini, Drehmel & Contu segundo Redhead et al. 2016. # Material necessita de revisão.

A importância das espécies de *Amanita* se mostra também por relatos de apreciação na culinária mundial, como por exemplo *Amanita caesarea* (Scop.) Pers. Contudo vários outros membros do gênero possuem compostos tóxicos ou letais quando ingeridos. *Amanita phalloides* é uma espécie letal bem conhecida (Cai et al. 2014). Há registros de intoxicações devido a sua semelhança com a *A. caesarea* e também a *Volvariella volvacea* (Bull.) Singer, ambas amplamente utilizadas na culinária asiática. Isso acontece porque em algumas regiões – principalmente no hemisfério norte e em alguns países da América do Sul – existe a cultura de coletar cogumelos em áreas silvestres para



consumo sem que necessariamente a identificação seja feita por um especialista. *Amanita muscaria*, a espécie tipo do gênero, aparece em diversos relatos de uso por antigos povos praticantes da cultura xamânica da Ásia, Europa e América do Norte (Samorini 1992) por possuir propriedades psicoativas. Dentre os compostos psicoativos e tóxicos estão o muscimol, muscarina, ácido ibotênico e isoxasol, que foram detectados em *A. muscaria* e em outras espécies do gênero. Essas substâncias podem se manifestar na forma de sintomas de psicose paranoica, com alucinações visuais e auditivas em humanos. As alucinações podem iniciar de uma a 18 horas após a ingestão, podendo ter duração de até cinco dias em casos de maior dosagem (Brvar et al. 2006).

A realização de estudos moleculares e filogenéticos incluindo espécies do Brasil é muito incipiente, mas poderá confirmar a identidade dos materiais registrados até o momento somente por caracteres morfológicos, além de revelar uma possível diversidade desconhecida. A posição dos espécimes brasileiros frente a táxons de outras partes do mundo incluídos em outros estudos filogenéticos possibilitará elucidar melhor as relações dentro do gênero. Isso é importante para averiguar se os ambientes brasileiros contêm espécies endêmicas de *Amanita*, em quais biomas essas espécies se encontram, ou quais delas são próximas filogeneticamente de espécies do hemisfério norte, onde o gênero é bem estudado.

Estudos sistemáticos como esse são de suma importância pois fornecem dados acerca de diversidade, podendo gerar impacto em ações de conservação e manejo, visto ainda que o grupo em foco forma associações ectomicorrízicas importantes com simbiontes vegetais ainda desconhecidos.

## OBJETIVOS

### **Objetivo geral:**

Contribuir para o conhecimento da diversidade de *Amanita* no Brasil.

### **Objetivos específicos:**

- Identificar e registrar novidades científicas das espécies de *Amanita* para o Brasil.

- Ampliar o conhecimento sobre a distribuição das espécies de *Amanita* para o Brasil.
- Realizar um checklist das espécies de *Amanita* que ocorrem no Brasil.
- Elaborar uma chave de identificação com as espécies registradas para o Brasil.
- Construir uma filogenia com sequências das espécies de *Amanita* que ocorrem na Mata Atlântica e na Floresta Amazônica do Brasil juntamente com sequências de outras espécies dos neotrópicos e de outras regiões do mundo (que estiverem disponíveis em bancos de sequências).
- Publicar os resultados em artigos científicos e na forma de divulgação científica.

## MATERIAL E MÉTODOS

### **Amostragem e análise morfológica dos materiais**

Foram analisados espécimes morfológicamente semelhantes a *Amanita* oriundos de expedições a campo e coletados por colaboradores em diferentes formações vegetacionais brasileiras. As coletas foram realizadas de forma oportunista e de acordo com a disponibilidade financeira. Foi solicitado empréstimo de materiais tipo e de referência depositados nos herbários brasileiros ICN, INPA, UFRN, URM e SP.

Após as coletas os espécimes foram fotografados e analisados macroscopicamente ainda frescos para que as características importantes para a determinação taxonômica fossem registradas, como coloração, tamanho e textura. No caso de coletas realizadas pela autora, foi retirado um fragmento do basidioma para análise molecular, sendo preservado em microtubo plástico com sílica gel. Após descritos e fotografados, os materiais foram desidratados em uma secadora de frutas (*Total Chef Food Dehydrator*) a 40°C com circulação de ar e então armazenados em sacos plásticos vedados (do tipo *ziplock*) etiquetados com o número de coletor.

As características macroscópicas analisadas foram: tamanho, textura, coloração, formato e consistência do píleo, estipe, himenóforo e características do anel, volva e escamas, quando presentes. As cores utilizadas estão referenciadas conforme a *Online Auction Color Chart* (Kramer 2004). Para cada amostra, vinte de cada uma das estruturas microscópicas a seguir foram medidas em diâmetro e comprimento (quando possível): basidiósporos, basídios, hifas da trama do himênio, do píleo e do estipe, hifas da superfície do píleo e superfície do estipe, do anel, da volva e das escamas, quando presentes. Para determinar com mais precisão o formato dos basidiósporos, foi calculado o quociente comprimento/largura Q, conforme orientado por Bas (1969). Os cortes à mão livre foram montados em lâminas com água, hidróxido de potássio a 3%, Vermelho Congo ou reagente de Melzer. As microestruturas foram observadas em um microscópio óptico de luz, com o auxílio de uma ocular com régua micrometrada acoplada. A terminologia das estruturas microscópicas seguiu a estabelecida por Largent et al. (1977). Após, foram confeccionados desenhos a mão livre das principais estruturas microscópicas.

As análises macroscópicas foram realizadas no Laboratório de Micologia e as microscópicas no Laboratório Multiusuário de Microscopia, ambos localizados no Departamento de Botânica da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC). Após a conclusão deste trabalho, todos os materiais serão depositados no herbário FLOR da UFSC.

### **Análises moleculares**

Foram realizadas extrações de DNA total dos materiais coletados seguindo o protocolo de Doyle & Doyle (1987) modificado por Góes-Neto et al. (2005) com utilização de CTAB. As amostras de DNA total foram amplificadas por meio de reações em cadeia da polimerase (PCR) da região nrITS (*primers* ITS4 e ITS5) e do gene nrLSU (*primers* LR0R e LR5). Para a PCR foram utilizado 4µl de DNA (bruto ou diluído 1:20), 10µl de água MiliQ, 10µl de Master Mix e 1µl de primer (10pmol/l). Os programas de amplificação de ITS e LSU estão especificados na Tabela 2.

Os procedimentos de extração e amplificação foram executados no Laboratório de Biologia Molecular do Departamento de Botânica da UFSC. Os produtos da amplificação foram purificados com PEG 20% e posteriormente enviados para sequenciamento por meio do método de Sanger no Centro de Pesquisas René Rachou (Fiocruz) e na Myleus Biotecnologia, ambas em Belo Horizonte – MG/Brasil.

Os cromatogramas gerados a partir do sequenciamento foram inspecionados e editados manualmente no programa Geneious v.8.1 (Kearse et al. 2012). Uma matriz foi montada para cada marcador com a inclusão de sequências adicionais obtidas do banco de dados GenBank ([ncbi.nlm.nih.gov/genbank/](http://ncbi.nlm.nih.gov/genbank/), Benson et al. 2005). A matriz foi alinhada no MAFFT (Kato & Standley 2013) e posteriormente editada no programa MEGA v.7 (Kumar et al. 2016). A partir do programa J Model Test versão 2.1.6 (Posada 2008) foi obtido o modelo de evolução molecular mais adequado aos dados. Para reconstrução filogenética a partir das matrizes alinhadas, foram utilizados os métodos de Máxima Verossimilhança (ML) e Inferência Bayesiana (IB), utilizando RAxML (Stamatakis 2014) e Mr. Bayes (Ronquist & Huelsenbeck 2003), programas disponíveis na plataforma CIPRES Science gateway (Miller et al. 2010, <http://www.phylo.org/>). Os resultados foram plotados no programa

FigTree v1.4.3 (<http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/>). Ao final do trabalho, as sequências obtidas serão depositadas no GenBank.

**Tabela 2.** Programas de PCR usados.

<b>Regiões do DNA</b>	<b>Ciclos</b>	<b>Temperatura</b>	<b>Tempo</b>	
ITS	Desnaturação inicial	95°C	2 min	
	5×	95°C	30 s	
		60°C	30 s	
		72°C	1 min	
		25×	95°C	30 s
	25×	55°C	30 s	
		72°C	1 min	
		Extensão final	72°C	10 min
	LSU	Desnaturação inicial	94°C	4 min
		35×	94°C	40 s
52°C			40 s	
72°C			150 s	
Extensão final		72°C	8 min	

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Estão incluídas neste trabalho análises morfológicas de 67 espécimes de *Amanita* coletados pela autora e por colaboradores.

Algumas coletas tiveram parte de seu basidioma comprometido ou foram totalmente descartadas e, portanto, não consideradas neste trabalho. Isso ocorreu devido ao consumo por larvas de ácaros que estavam em estágio de dormência presentes nos basidiomas dentro dos sacos plásticos de armazenamento. Foi realizado o congelamento das amostras em freezer com temperatura de  $-4^{\circ}\text{C}$  durante cinco dias, contudo esse procedimento não foi suficiente para eliminar os agentes causadores do consumo dos basidiomas. As amostras que não sofreram sérios danos e as que não apresentaram sinais de consumo foram posteriormente congeladas a  $-80^{\circ}\text{C}$  por 14 dias e assim não apresentaram novos traços de degradação.

Para corroborar as identificações foi solicitado empréstimo de materiais tipo e de referência depositados nos herbários ICN, INPA, UFRN, URM e SP. Contudo apenas os herbários ICN e da UFRN respondeu enviando os tipos de *Amanita petalinovola* Wartchow e de *Amanita viscidolutea* Menolli, Capelari & Baseia.

Os 67 espécimes coletados foram identificados em 17 táxons diferentes com base em caracteres morfológicos e moleculares. A identificação resultou em 10 possíveis novas espécies para a ciência (*Amanita* sp. 1, *Amanita* sp. 2, *Amanita* sp. 3, *Amanita* sp. 4, *Amanita* sp. 5, *Amanita* sp. 6, *Amanita* sp. 7, *Amanita* sp. 8, *Amanita* sp. 9 e *Amanita* sp. 10); um novo registro para o Brasil, *Amanita phalloides*, coletada em área de vegetação exótica e representando o primeiro registro de uma espécie de *Amanita* seção *Phalloideae* para o país; cinco novos registros para o estado de Santa Catarina: *Amanita campinaranae*, *Amanita coacta*, *Amanita crebresulcata*, *Amanita lanivolvea* e *Amanita viscidolutea*; um novo registro para o estado do Espírito Santo: *Amanita lanivolvea*; e a recoleta de *Amanita rubescens* para o estado do Rio Grande do Sul, encontrada em área de vegetação exótica).

Os dados moleculares da região ITS referentes a *Amanita* seção *Vaginatae* estão abordados no Capítulo I, sendo que a matriz resultante inclui 77 sequências, 58 disponibilizadas pelo GenBank e 19, correspondendo a oito espécies, geradas neste trabalho.

Os dados para as demais espécies de *Amanita* estão abordados no Capítulo II, cuja matriz e caracteres moleculares inclui 78 seqüências de ITS, sendo 66 providas do GenBank e 12, que representam cinco espécies, obtidas neste trabalho. A filogenia com todas as seqüências citadas é apresentada no Anexo 2.

Além dessas 31 seqüências de ITS, foram geradas 16 seqüências de LSU, sendo que apenas duas delas foram utilizadas, referentes às coletas GS 067 e ANMF 594, identificadas respectivamente como *Amanita coacta* e *Amanita* sp. 5. As demais apresentaram baixa qualidade nos cromatogramas (abaixo de 20%) e, como não houve tempo para repetir os procedimentos para obter novas seqüências, elas não foram utilizadas nas análises filogenéticas.

Não há estudos anteriores publicados acerca da posição filogenética de *Amanita coacta* relacionada à outras espécies brasileiras. Contudo, no GenBank estão disponíveis duas seqüências de LSU provenientes de coletas brasileiras (inclusas no trabalho de Menolli et al. 2009). Essas duas seqüências, juntamente com seqüências de outras espécies que tiveram maior porcentagem de identidade pela ferramenta de busca “blast”, foram adicionadas em uma matriz com as duas seqüências de LSU oriundas deste trabalho, confirmando a identidade do espécime GS 067 como *Amanita coacta*. A partir dessa análise, inferiu-se que as coletas ACM 954 e ANMF 636, que na filogenia de ITS agruparam no mesmo clado que GS 067, também são *Amanita coacta* (Anexo 1).

O conceito filogenético de espécie, com base nas análises de ITS, foi considerado para a distinção de *Amanita coacta*, *Amanita* sp. 2 e *Amanita* sp. 6, uma vez que somente a macro e a micromorfologia não foram suficientemente informativas para separar os espécimes desses três táxons. A partir disso se reflete sobre a possibilidade de serem espécies crípticas, filogenéticas ou em vias de processo de especiação.

A qualidade dos cromatogramas das seqüências de ITS foi baixa principalmente para alguns espécimes de *Amanita* sp. 2, *Amanita* sp. 3 e *Amanita* sp. 4, cuja árvore está apresentada no Capítulo I, e de um espécime de *Amanita* sp. 8 e *Amanita* sp. 9, cuja árvore está no Capítulo II. Devido a isso, não foi possível obter uma boa sustentação para alguns espécimes dessas espécies nos ramos das árvores. Nestes casos a morfologia teve um peso elevado na distinção e identificação dos espécimes. Por esta razão, as análises moleculares filogenéticas desses

materiais serão refeitas para a submissão dos artigos referentes a cada capítulo, pois devido a falta de tempo não puderam ser repetidas para esta dissertação.

Na filogenia de ITS apresentada no Capítulo II, *Amanita* sp. 7 ficou agrupada com membros da seção *Vaginatae*. Todavia, a morfologia dos espécimes referentes a este táxon apresentou características presentes da seção *Amanita*, como base bulbosa do estipe, fíbulas e anel – características ausentes na seção *Vaginatae*. Apesar do suporte do ramo ter sido alto, sua posição na filogenia foi considerada duvidosa e não utilizada para fins de taxonômicos.

Os melhores modelos evolutivos estimados pelo JModelTest foram GTR+I+G para a região ITS e TIM3+G para a região LSU. A topologia das árvores filogenéticas apresentadas foi a de Máxima Verossimilhança com os valores de sustentação gerados na filogenia de Inferência Bayesiana. Em ambas análises foram mostrados apenas os valores de sustentação de *bootstrap* superiores a 50% e de Probabilidade Posterior superior a 0.7. O acréscimo de marcadores de outras regiões do DNA seria de grande valia para uma nova análise filogenética dos táxons amostrados, pois poderia fornecer melhor sustentação e confiabilidade aos cladogramas da filogenia.

Além da análise com apenas um marcador, outro fator que influenciou foi a carência de sequências de espécimes brasileiros ou sul-americanos disponíveis no GenBank, que poderiam ser utilizadas para comparação entre os espécimes amostrados neste trabalho e suas relações filogenéticas. Ainda, as purificações feitas com PEG 20% apresentaram “arrasto” no gel de eletroforese, indicando que seria interessante a mudança do protocolo utilizado a fim de evitar esse efeito e possibilitar uma maior qualidade das sequências geradas. Devido a baixa qualidade de algumas sequências, nem sempre foi possível estabelecer a sequência consenso (“*contig*”) das duas fitas de uma mesma região, sendo utilizado, em alguns casos, apenas uma delas na reconstrução das filogenias.

Foram construídas três chaves dicotômicas de identificação morfológica, uma para as espécies de *Amanita* seção *Vaginatae* para o Brasil, incluindo as espécies descritas neste trabalho, outra para as espécies pertencentes às demais seções de *Amanita* que ocorrem no Brasil e uma chave de identificação abrangendo todas as espécies que ocorrem no Brasil com as espécies oriundas deste trabalho. Para elaborar as chaves foram levados em conta primeiramente caracteres macromorfológicos



seguidos então dos micromorfológicos. Atentou-se em evitar, quando possível, a utilização de caracteres amplamente variáveis como presença de escamas e coloração do píleo. Esses caracteres têm se mostrado muitas vezes atrelados a fatores exógenos como, por exemplo, umidade, incidência de luz, componentes e pH do substrato, que interferem na coloração do píleo, presença ou ausência de escamas e ausência de superfície superior do píleo, a qual tende a se apresentar como ixocútis e que pode estar ausente devido a baixa umidade do ambiente.

A partir deste trabalho, o número de espécies de *Amanita* registradas para o Brasil foi ampliado de 26 para 37 espécies, sendo 10 delas novidades científicas (Anexo 3 e Anexo 4).

### **Chave de identificação de seções e espécies de *Amanita* ocorrentes no Brasil**

1. Basidiósporos inamiloides, píleo com margem estriada ..... **(Subgênero *Amanita*) 2**
- 1'. Basidiósporos amiloides, píleo com margem não estriada ..... **(Subgênero *Lepidella*) 3**
2. Estipe subcilíndrico a bulboso, anel geralmente presente, fíbulas presentes ..... **Seção *Amanita* 5**
- 2'. Estipe cilíndrico sem bulbo, anel ausente, fíbulas ausentes ..... **Seção *Vaginatae* 14**
3. Margem do píleo apendiculada ..... **Seção *Lepidella* 24**
- 3'. Margem do píleo não apendiculada ..... **4**
4. Volva pouco desenvolvida, geralmente pulverulenta ou verrucosa, anel geralmente membranoso, pigmentos presentes na superfície do píleo ..... **Seção *Validae* 34**
- 4'. Anel e volva bem desenvolvidos, escamas geralmente ausentes ..... **Seção *Phalloideae* 37**
5. Presença de anel em formato de saia, persistente em basidiomas maduros ..... **6**
- 5'. Ausência de anel ou presença de anel frágil ou ausente em basidiomas maduros ..... **8**
6. Píleo vermelho, geralmente com escamas brancas ..... ***Amanita muscaria* (L.) Lam.**
- 6'. Píleo em tons de marrom a amarelo pálido ..... **7**

7. Píleo marrom claro, geralmente ocorrendo em áreas de vegetação exótica de *Pinus* sp. ou *Castanea* sp. ....***Amanita pantherina* (DC.) Krombh.**
- 7'. Píleo amarelo pálido geralmente ocorrendo em áreas de vegetação exótica de *Eucalyptus* sp. ....***Amanita aliena* Wartchow & Cortez**
8. Anel frágil mas sempre presente em basidiomas imaturos .....**9**
- 8'. Anel ausente .....**10**
9. Píleo e estipe amarelo-ocre .....***Amanita xerocybe* Bas**
- 9'. Píleo cinza-chumbo, presença de escamas brancas abundantes, estipe branco.....***Amanita* sp. 7**
10. Volva em formato de sacada com superfície externa subtomentosa a tomentosa .....**11**
- 10'. Volva friável .....**12**
11. Porção tomentosa da volva iniciando apenas acima do bulbo do estipe, geralmente com presença de uma única escama sobre o píleo .....***Amanita lanivolva* Bas**
- 11'. Volva iniciando abaixo do bulbo do estipe, subtomentosa, píleo abundantemente sulcado .....***Amanita sulcatissima* Bas**
12. Píleo amarelo limão, opaco, com esquâmulas abundantes.....***Amanita chrysoleuca* Pegler**
- 12'. Píleo amarelo víscido, presença de escamas achatadas .....**13**
13. Volva friável, com ápice amarelado.....***Amanita viscidolutea* Menolli, Capelari & Baseia**
- 13'. Volva friável com um limbo superior mais robusto, de coloração amarelada .....***Amanita petalinovolva* Wartchow**
14. Basidiomas com volva tipicamente sacada e branca, geralmente sem escamas .....**15**
- 14'. Basidiomas com volva sutilmente sacada e/ou formando zonas transversais ao redor da porção inferior do estipe.....**18**
15. Volva espessa, geralmente se rompendo em uma grande e única fenda .....**16**
- 15'. Volva delgada, geralmente se rompendo no ápice .....**17**
16. Píleo fortemente convexo, com coloração marrom clara, ocre ou alaranjada, píleo com até 50 mm de diâmetro.....***Amanita* sp. 3**
- 16'. Píleo plano, com coloração marrom esverdeada, píleo maior que 100 mm de diâmetro .....***Amanita* sp. 4**
17. Estipe pálido, branco a bege, basidiósporos alongados (Q=1,84), ocorrendo em vegetação de restinga .....***Amanita* sp. 1**

17. Estipe com fibrilas marrom escura, basidiósporos subglobosos a amplamente elipsoides ( $Q=1,1-1,4$ ), ocorrendo em solo terrestre ..... *Amanita crebresulcata* Bas
18. Estipe tipicamente cilíndrico ..... 19
- 18?. Estipe com base abruptamente bulbosa.....  
..... *Amanita lippiae* Wartchow & Tulloss
19. Porção superior da volva com coloração alaranjada  
..... *Amanita tenacipulvis* Wartchow
- 19?. Porção superior da volva de coloração branca ou cinza ..... 20
20. Estipe cinza escuro em toda sua extensão, geralmente punctado, volva curta e totalmente aderida ao estipe ..... 21
- 20?. Estipe branco a bege, ou com colorações amarronzadas apenas na altura central, volva com bordas livres do estipe ..... 22
21. Superfície do píleo tendendo a uma cútis com hifas infladas de até 2,5–25  $\mu\text{m}$  de diâmetro ..... *Amanita craseoderma* Bas
- 21?. Superfície do píleo ixotricodermal com hifas delgadas de 2–6  $\mu\text{m}$  de diâmetro..... *Amanita* sp. 5
22. Volva de coloração cinza, frágil, basidiósporos elipsoides, com  $Q'$  igual ou superior a 1,40..... *Amanita* sp. 2
- 22?. Volva de coloração branca na porção inferior e cinza na porção superior, basidiósporos amplamente elipsoides com  $Q'$  até 1,30 ..... 23
23. Volva com aspecto mais submembranoso do que feltrado formando cinturões transversais em torno do estipe, píleo com pigmentos acinzentados, estipe com presença de fibrilas acinzentadas principalmente na base ..... *Amanita coacta* Bas
- 23?. Volva com aspecto mais feltrado do que submembranoso, formando cinturões delgados em torno do estipe, píleo com pigmentos amarronzados, estipe pálido, geralmente sem fibrilas contrastantes  
..... *Amanita* sp. 6
24. Superfície do píleo com colorações víscidas, amarelas, azuladas, cinza escuro, marrom escuro ..... 25
- 24?. Superfície do píleo com colorações pálidas, brancas, amarronzadas pálidas ..... 29
25. Píleo e estipe amarelo víscido, escâmulas da mesma cor  
..... *Amanita aureofloccosa* Bas
- 25?. Píleo de outras colorações ..... 26
26. Basidioma com coloração azul, lamelas de coloração creme a levemente rosadas ..... *Amanita viridissima* Wartchow

- 26'. Basidiomas com píleo cinza a marrom, estipe geralmente de outra cor em relação ao píleo, lamelas brancas.....27
27. Píleo marrom a marrom alaranjado, escâmulas da mesma cor, anel não persistente na maturidade, ocorrendo em Floresta Ombrófila Mista .....*Amanita grallipes* Bas & de Meijer
- 27'. Píleo cinza, escamas cinza claras, anel branco membranoso e persistente .....28
28. Estipe cinza com fibrilas amarronzadas, escamas cinzas geralmente presentes no centro do píleo; superfície do píleo na forma de uma cútis; Q' até 1,1.....*Amanita* sp. 8
- 28'. Margem do píleo com pequenas escâmulas brancas, estipe esbranquiçado, geralmente sem escamas no centro; píleo marrom escuro; superfície do píleo na forma de ixocútis; Q' maior que 1,1 .....*Amanita* sp. 10
29. Estipe com base abruptamente bulbosa .....30
- 29'. Estipe subcilíndrico, com base bulbosa suave .....31
30. Volva com margem superior curta, bem aderida ao bulbo; superfície do píleo na forma de uma cútis não gelatinizada.....*Amanita psammolimbata* Wartchow & Sulzbacher
- 30'. Volva com margem superior longa, formando um limbo livre acima do bulbo do estipe; superfície do píleo na forma de uma ixocútis densamente gelatinizada .....*Amanita* sp. 9
31. Basidiomas grandes e robustos, com píleo maior do que 100 mm de diâmetro e estipe maior do que 80 mm de comprimento; píleo marrom claro .....*Amanita strobiliformis* (Paulet ex Vittad.) Bertill.
- 31'. Basidiomas menores, superfície do píleo de coloração branca a bege .....32
32. Píleo pálido com escamas abundantes, verrucosas a piramidais, de coloração marrom a marrom alaranjada; anel geralmente não persistente .....*Amanita dulciodora* C.C. Nascimento, Sá & Wartchow
- 32'. Píleo pálido com escamas de mesma coloração e mais achatadas; anel geralmente persistente .....33
33. Basidiomas robustos, píleo branco com centro levemente rosado, basidiósporos 11–13 × 8–10 µm ....*Amanita ameghinoi* (Speg.) Singer
- 33'. Basidiomas delgados, píleo bege, basidiósporos 7,5–9,5 × 6,5–7,5 µm .....*Amanita lilloi* Singer

34. Basidioma tornando-se avermelhado ao toque, geralmente ocorrendo em presença de *Pinus* sp. ou *Castanea* sp. .... ***Amanita rubescens* Pers.**
- 34'. Basidiomas não mudando de coloração ao toque ..... **35**
35. Estipe subcilíndrico, com base fracamente bulbosa, píleo cônico com centro fortemente escuro ..... ***Amanita phaea* Bas**
- 35'. Estipe com base abruptamente bulbosa, píleo plano a convexo .... **36**
36. Basidiomas ocorrentes em vegetação nativa, basidiósporos medindo  $5,5-9 \times 5,5-6,5 \mu\text{m}$  ..... ***Amanita campinaranae* Bas**
- 36'. Basidiomas ocorrentes em vegetação exótica introduzida, basidiósporos medindo  $7-13 \times 5-8 \mu\text{m}$  ... ***Amanita excelsa* (Fr.) Bertill.**
37. Basidiomas com volva e anel membranosos e bem desenvolvidos, píleo com coloração olivácea, basidiomas crescendo em vegetação com *Pinus* sp. .... ***Amanita phalloides* (Vaill. ex Fr.) Link**

**CAPÍTULO I** – *Amanita* Pers. seção *Vaginatae* (Fr.) Quél. ocorrentes do Brasil

## *Amanita* Pers. seção *Vaginatae* (Fr.) Quéll. ocorrentes no Brasil

### Resumo

*Amanita* seção *Vaginatae* é a maior seção, em número de espécies de *Amanita*, com mais de 120 nomes aceitos. É caracterizada macroscopicamente por apresentar basidiomas com píleos sulcados, base do estipe não bulbosa e ausência de anel. Os basidiósporos são inamiloides de parede lisa e as hifas não têm fíbulas. Para o Brasil são registradas cinco espécies. Este é o primeiro estudo com representantes da seção ocorrentes no Brasil e o primeiro a combinar caracteres morfológicos e filogenéticos com base nos espécimes brasileiros. Foram estudados 36 espécimes coletados entre 2013 e 2018 no Mato Grosso (Floresta Amazônica), Rio Grande do Sul e Santa Catarina (Mata Atlântica). Foram geradas 19 sequências de DNA da região ITS e duas de LSU e incluídas, nas análises filogenéticas, 57 sequências de ITS e 52 de LSU obtidas do GenBank. Este trabalho apresenta seis espécies novas para a ciência, o primeiro registro de *Amanita crebresulcata* para o Mato Grosso e de *Amanita coacta* para Santa Catarina. Estão incluídas fotos dos basidiomas em campo, ilustrações das características microscópicas, uma filogenia do grupo e chave para as espécies da seção encontradas no Brasil. Sugere-se a continuação do estudo com ampliação de coletas e sequenciamento de outros marcadores de DNA a fim de expandir o conhecimento da seção nos diferentes biomas brasileiros.

**Palavras-chave:** Amanitaceae. Agaricales. Mata Atlântica. Floresta Amazônica. ITS. Sistemática.

### Introdução

*Amanita* é um dos gêneros mais conhecidos de cogumelos, com mais de 500 espécies validadas (Kirk et al. 2008) e ocupa 95% do número de táxons dentro de Amanitaceae (Cui et al. 2018). Segundo Corner & Bas (1962) e Bas (1969) o gênero é dividido em dois subgêneros, *Amanita* subgênero *Amanita* e *Amanita* subgênero *Lepidella* conforme presença de sulcos no píleo e reação de amiloidia dos basidiósporos.

Dentro de *Amanita* subgênero *Amanita*, estão presentes três seções: *Amanita* seção *Amanita*, *Amanita* seção *Caesareae* e *Amanita* seção *Vaginatae*. Sumariamente *Amanita* seção *Amanita* engloba basidiomas com uma base bulbosa e volva friável ou pouco desenvolvida. *Amanita* seção *Caesareae* geralmente apresenta anel, fíbulas na base dos

basídios e não possui um bulbo no estipe. *Amanita* seção *Vaginatae*, o foco deste estudo, é a maior seção de todo o gênero, com mais de 120 espécies aceitas e mais de 60 nomes provisórios (Tulloss & Yang 2019). Essa seção é caracterizada macroscopicamente por abrigar espécimes com a borda do píleo sulcada, estipe com a base não bulbosa e ausência de anel na maturidade (com exceção de *Amanita cingulata*, segundo Liu et al. 2017). Microscopicamente as espécies dessa seção são caracterizadas por basidiósporos inamilóides e com formato globoso, subgloboso a elipsoide e ausência de fíbulas (Thongbai et al. 2018).

Essa seção vem sendo estudada morfológica e filogeneticamente por pesquisadores como Tulloss (1994), Contu (2003), Tang et al. (2015), Liu et al. (2017), Cui et al. (2018) e Thongbai et al. (2018), em diferentes países do mundo, mas principalmente na África, América do Norte, China e Europa, contudo, ainda não há um estudo da seção para o Brasil, região altamente diversa. Das 26 espécies descritas para o país, apenas cinco pertencem a seção *Vaginatae*, sendo elas: *Amanita coacta* Bas, *Amanita craseoderma* Bas, *Amanita crebresulcata* Bas, *Amanita lippiae* Wartchow & Tulloss e *Amanita tencacipulvis* Wartchow. Além disso, este é o primeiro estudo filogenético incluindo relações entre membros do gênero coletados no país.

Este trabalho objetiva examinar morfológica e filogeneticamente as espécies de *Amanita* seção *Vaginatae* ocorrentes em dois domínios fitogeográficos brasileiros – Mata Atlântica e Floresta Amazônica.

## Material e Métodos

Os materiais foram coletados em expedições a campo realizadas entre novembro de 2012 a novembro de 2018 em regiões conservadas com predomínio de Mata Atlântica (no estado do Rio Grande do Sul e Santa Catarina) e de Floresta Amazônica (no estado do Mato Grosso).

Os materiais foram fotografados ainda em campo e descritos macromorfológica e ainda frescos. A cartela de cores seguidas foi a *Online Auction Color Chart* (Kramer 2004). Após, foram desidratados em secadora doméstica de frutas à 40°C e acondicionados em sacos plásticos hermeticamente fechados e etiquetados. A microscopia foi realizada utilizando microscópio óptico de luz com régua micrometrada acoplada. Cortes a mão livre foram montados em lâminas com água, hidróxido de potássio a 3%, reagente de Melzer (verificação de reações



de amiloidia) e corante Vermelho Congo (usado para destacar a delimitação das hifas). Foram medidas 20 unidades de cada estrutura dos basidiomas. O quociente comprimento/diâmetro indicado por “Q” nas descrições microscópicas foi calculado para melhor delimitação da forma dos basidiósporos, conforme Bas (1969).

Para as análises filogenéticas, foi seguido o protocolo de Doyle & Doyle (1987) modificado por Góes-Neto et al. (2005) de extração de DNA com CTAB. Foi amplificada a região *Internal Transcribed Spacer* (primers ITS1 e ITS4) (White et al. 1990) do DNA por meio de Reações em Cadeia da Polimerase (PCR). Os ciclos de PCR utilizados para ITS foi: Desnaturação inicial a 95°C por 2 min, 5 ciclos de 95°C por 30 s, 60°C por 30 s e 72°C por 1 min, 25 ciclos de 95°C por 30 s, 55°C por 30 s e 72°C por 1 min e extensão final a 72°C por 10 min. O produto da PCR foi purificado com PEG 20% e enviado para sequenciamento com o mesmo par de primer na empresa Myleus Biotecnologia e no Centro de Pesquisa René Rachou – Fiocruz, ambas em Minas Gerais, Brasil. As análises morfológicas e filogenéticas (com exceção do sequenciamento) foram todas realizadas no Laboratório de Micologia e Laboratório de Biologia Molecular do Departamento de Botânica da Universidade Federal de Santa Catarina, Brasil.

As sequências geradas foram manualmente curadas no Geneious v.8.1 (Kearse et al. 2012), alinhadas no MAFFT (Kato & Standley 2013) e editadas no MEGA v.7 (Kumar et al. 2016). Junto a elas foi montada uma matriz para cada marcador utilizando sequências disponíveis no banco de dados GenBank ([ncbi.nlm.nih.gov/genbank/](http://ncbi.nlm.nih.gov/genbank/), Benson et al. 2005) (Tabela 3). A reconstrução das filogenias foi feita com o modelo evolutivo estimado pelo jModelTest v2.1.6 (Darriba et al., 2012; Guindon et al. 2010) utilizando os métodos de Máxima Verossimilhança (ML) e Inferência Bayesiana (IB), rodados através da plataforma CIPRES Science gateway (Miller et al., 2010, <http://www.phylo.org/>). Os filogramas foram visualizados no FigTree (<http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/>). Ao final do trabalho, as sequências obtidas serão depositadas no GenBank.

**Tabela 3.** Espécimes usados nas análises moleculares. Em negrito são as sequências geradas neste trabalho; \* sequências que serão depositadas no Genbank; - dados ausentes.

<b>Espécie</b>	<b>Voucher</b>	<b>ITS</b>	<b>Localidade</b>	<b>Referência</b>
<i>Amanita aff. crebresulcata</i>	TH8920	KT3392 46	Guiana	-
<i>Amanita atrofusca</i>	HKAS 36610	AY436 446 KP2589	China	Zhang et al. 2004
<i>Amanita basiana</i>	RET 308-4	86 KM658	Itália	-
<i>Amanita battarrae</i>	LE<RUS>:296458	290 JF9077	Rússia	- Osmundson et al. 2013
<i>Amanita beckeri</i>	7826	58 MH508	Itália	
<i>Amanita brunneofuliginea</i>	HKAS92078	270 MH508	China, Jilin	Cui et al. 2018
<i>Amanita brunneofuliginea</i>	HKAS83536	268 MF461	China, Sichuan	- Thongbai et al. 2018
<i>Amanita brunneoprocera</i>	BZ2015-24	573 MF461	Tailândia	Thongbai et al. 2018
<i>Amanita brunneosquamata</i>	BZ2014-08	582 MF461	Tailândia	Thongbai et al. 2018
<i>Amanita brunneosquamata</i>	BZ2015-73	581 KF0179	Tailândia Chungcheong do Sul	Thongbai et al. 2018 Kim et al. 2013
<i>Amanita ceciliae</i>	KA12-0758	29 AB0156		
<i>Amanita ceciliae</i>	LEM950069	94	-	-
<i>Amanita colombiana</i>	ANDES_F910_NV E410	KT0080 27	Colômbia	Vargas et al. 2017
<i>Amanita colombiana</i>	ANDES_F2273_Pe nagos3	KT0080 23	Colômbia	Vargas et al. 2017
<i>Amanita constricta</i>	UBCOGTR0411s	EU5970 73 KC1553	-	Jones et al. 2008
<i>Amanita craseoderma</i>	TH8907	82 FJ4410	Guiana	-
<i>Amanita crocea</i>	A3	33 AY436	China, Jianchuan	- Zhang et al. 2004
<i>Amanita crocea</i>	HKAS 31489	484 MF461	Alemanha	Thongbai et al. 2018
<i>Amanita flavidogrisea</i>	BZ2015-44	574 FJ8900	Tailândia	Vargas et al. 2011
<i>Amanita fuligineodisca</i>	AFM1812	27 KT0080	Colômbia, Bogotá	Vargas et al. 2011
<i>Amanita fuligineodisca</i>	ANDES_F823_NV E324	25 AY325	Colômbia	Vargas et al. 2011
<i>Amanita fulva</i>	MSC 380554	844	-	-

		KJ6382		
<i>Amanita fulva</i>	2741	70	Canadá	-
	SUA712(LAH3521	KY817		
<i>Amanita glarea</i>	7)	312	Paquistão	-
<i>Amanita glarea</i>		NR1516		
(holótipo)	LAH 35044	57	Paquistão	-
		KF0179		
<i>Amanita griseofolia</i>	KA12-0818	34	Gyeonggi	Kim et al. 2013
<i>Amanita lesueurii</i>		NR1516		
(holótipo)	PERTH 08351325	49	Austrália	
		JN1828		
<i>Amanita lignitincta</i>	94	80	-	-
		KP2589		
<i>Amanita lippiae</i>	RET 418-2	91	Brasil, Pernambuco	-
<i>Amanita lippiae</i>		NR1546		
(holótipo)	RET 418-2	92	Brasil, Pernambuco	-
		AY436		Zhang et al.
<i>Amanita liquii</i>	HKAS 36611	462	China	2004
<i>Amanita</i>		KX834		
<i>lividopallescens</i>	TO LP220611	244	Itália	-
<i>Amanita</i>		KX834		
<i>lividopallescens</i> Epítipo	TO MC121009	245	França	-
		MF461		Thongbai et al.
<i>Amanita luteoparva</i>	BZ2015-46	575	Tailândia	2018
		JF9077		Osmundson et
<i>Amanita oblongispora</i>	15831	62	Itália	al. 2013
		KF0179	Chungcheong do	
<i>Amanita orientifulva</i>	KA12-0642	40	Norte	Kim et al. 2013
		AY436		Zhang et al.
<i>Amanita orientifulva</i>	HKAS 32522	464	China	2004
		HQ650		
<i>Amanita pachycolea</i>	80576	725	Canadá	-
		KT8749		
<i>Amanita pachycolea</i>	AR09798	53	México	-
		KP2243	Estados Unidos,	
<i>Amanita populiphila</i>	RET2669	23	Colorado	-
<i>Amanita</i>		AY436		Zhang et al.
<i>pseudovaginata</i>	HKAS 38323	470	China	2004
		KP2243		
<i>Amanita rhacopus</i>	RET 505-6	38	Canadá	-
		KX834		Vizzini et al.
<i>Amanita simulans</i>	TO PA151006	261	Reino Unido	2016
	LIP	KX834		Vizzini et al.
<i>Amanita simulans</i>	(PAM13112104)	25	França	2016
		KJ6382		
<i>Amanita sinicoflava</i>	3841	63	Canadá	-
	ANDES_F2088_N	KT0080		Vargas et al.
<i>Amanita sororcula</i>	VE587	17	Colômbia	2017
<i>Amanita sp.</i>		KY952	Estados Unidos,	
"minnesorora"	RET 464-5	147	Colorado	-
<i>Amanita sp.</i>		KU248	Estados Unidos,	
"minnesorora"	RET 156-9	109	Minnesota	-

<i>Amanita sp. "rhacopus"</i>	RET 627-10	KY655 764	Estados Unidos, Maine	-
<i>Amanita submembranacea</i>	A-9	FJ7052 75	-	Borovička et al. 2010
<i>Amanita suborientifulva</i>	OR1276	MF461 584	Tailândia	Thongbai et al. 2018
<i>Amanita subovalispora</i>	BZ2015-70	MF461 580	Tailândia	Thongbai et al. 2018
<i>Amanita supravolvata</i>	RET1037	KP2589 95	France	-
<i>Amanita supravolvata (holótipo)</i>	RET 103-7	NR1546 93	França, Gironde	-
<i>Amanita umbrinolutea</i>	HKAS 31451	AY436 478	Alemanha	Zhang et al. 2004
<i>Amanita vaginata</i>	KA12-0665	KF0179 48	Coréia do Sul	-
<i>Amanita vaginata</i>	KA121190	KF0179 49	Coréia do Sul	-
<i>Amanita velosa</i>	7004	GQ250 409	Estados Unidos	-
<i>Amanita coacta</i>	ACM 954	*	<b>Brasil, Santa Catarina</b>	
<i>Amanita coacta</i>	GS 067	*	<b>Brasil, Santa Catarina</b>	
<i>Amanita coacta</i>	ANMF 636	*	<b>Brasil, Santa Catarina</b>	
<i>Amanita crebresulcata</i>	CJL 204	*	<b>Brasil, Mato Grosso</b>	
<i>Amanita sp. 1</i>	GS 032	*	<b>Brasil, Santa Catarina</b>	
<i>Amanita sp. 1</i>	GS 089	*	<b>Brasil, Santa Catarina</b>	
<i>Amanita sp. 1</i>	GS 065	*	<b>Brasil, Santa Catarina</b>	
<i>Amanita sp. 1</i>	GS 066	*	<b>Brasil, Santa Catarina</b>	
<i>Amanita sp. 1</i>	ACM 970	*	<b>Brasil, Santa Catarina</b>	
<i>Amanita sp. 1</i>	ACM 602	*	<b>Brasil, Santa Catarina</b>	
<i>Amanita sp. 2</i>	GS 026	*	<b>Brasil, Santa Catarina</b>	
<i>Amanita sp. 3</i>	JS 267	*	<b>Brasil, Mato Grosso</b>	
<i>Amanita sp. 4</i>	JM FLO 20	*	<b>Brasil, Santa Catarina</b>	
<i>Amanita sp. 5</i>	ANMF 594	*	<b>Brasil, Santa Catarina</b>	
<i>Amanita sp. 6</i>	ACM 1130	*	<b>Brasil, Rio Grande do Sul</b>	
<i>Amanita sp. 6</i>	ACM 1348	*	<b>Brasil, Rio Grande do Sul</b>	

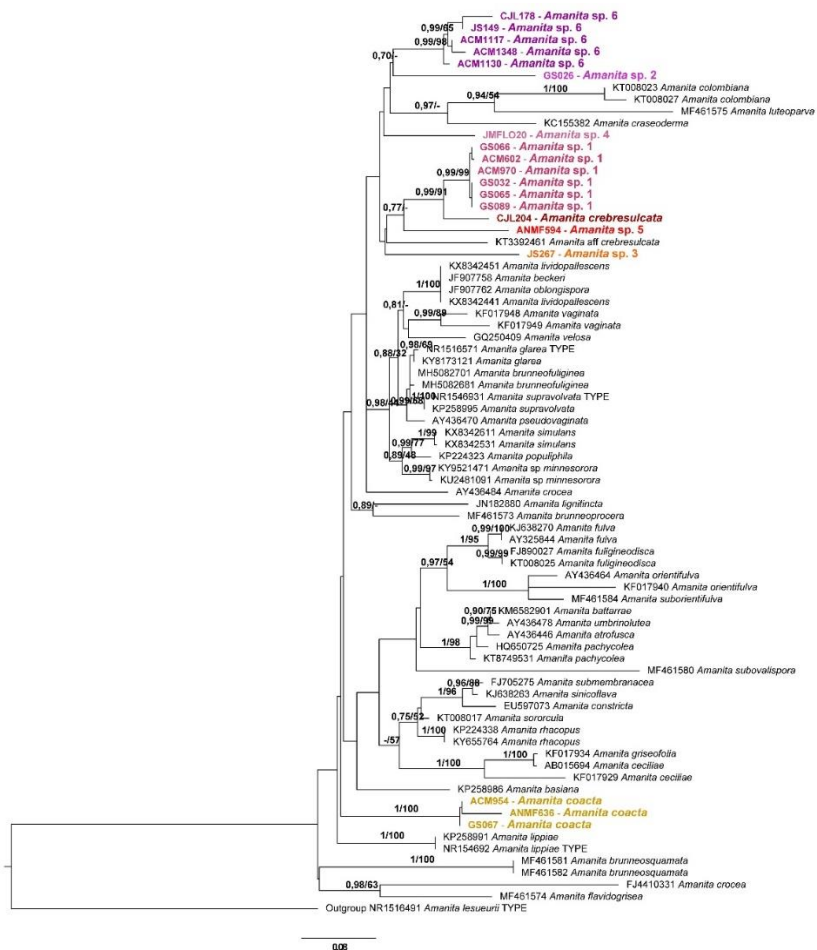
<i>Amanita</i> sp. 6	ACM 1117	*	Brasil, Rio Grande do Sul
<i>Amanita</i> sp. 6	JS 149	*	Brasil, Mato Grosso
<i>Amanita</i> sp. 6	CJL 178	*	Brasil, Mato Grosso

### Resultados e Discussão

Foram coletados 36 espécimes identificados em oito espécies. As coletas abrangeram diferentes tipos vegetacionais, sendo eles a Floresta Ombrófila Densa, Floresta Estacional Semi-Decidual, Restinga e Campinarana presentes na Mata Atlântica dos estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina e na Floresta Amazônica do estado do Mato Grosso.

Para incrementar as análises morfológicas, foi solicitado empréstimo de dois materiais tipo depositados no herbário INPA (*Amanita coacta* e *Amanita crebresulcata*). Entretanto, esses materiais não puderam ser emprestados para estudo pois estavam severamente degradados.

A matriz final gerada com dados moleculares da região ITS incluiu 76 espécimes, sendo 57 sequências obtidas no GenBank e 19 geradas neste trabalho. O melhor modelo evolutivo estimado pelo JModelTest para ITS foi GTR+I+G. A filogenia da região ITS é apresentada na Figura 1 com a topologia da árvore de Máxima Verossimilhança com topologia semelhante a da análise de Inferência Bayesiana.



**Figura 1.** Filogenia de representantes de *Amanita* seção *Vaginatae* inferida a partir da região ITS com topologia de análise de Máxima Verossimilhança. Os valores de *bootstrap* acima de 50% são mostrados antes da barra e os valores de Probabilidade Posterior acima de 70% são mostrados depois da barra. Nomes coloridos em negrito são de sequências oriundas deste trabalho.

A relação das análises filogenéticas moleculares com os estudos morfológicos não ficou claramente elucidada. A morfologia de *Amanita coacta* é muito semelhante a de *Amanita* sp. 2 e de *Amanita* sp. 6, contudo as análises moleculares não corroboraram isso, sugerindo um distanciamento filogenético entre elas. Ao mesmo tempo em que há várias estruturas para serem mensuradas em *Amanita* seção *Vaginatae*, elas se mostram muito variáveis dentro de uma mesma espécie e acabam sendo semelhantes e sobrepostas em espécies diferentes, principalmente no quesito de dimensões de estruturas microscópicas, como basídios, superfície do píleo, volva e escamas e de coloração de estruturas macroscópicas. Ademais, é arriscado confiar piamente em caracteres como coloração do píleo, ausência de escamas e disposição das hifas da superfície do píleo em razão da influência de fatores exógenos como umidade e perfil do substrato, os quais podem alterar esses caracteres do basidioma e devem ser meticulosamente ponderados ao serem incluídos em chaves de identificação de espécies do grupo.

Como ainda não há trabalhos filogenéticos com o gênero *Amanita* para o Brasil e, conseqüentemente com *Amanita* seção *Vaginatae*, foram utilizados estudos morfológicos já realizados com o grupo para a identificação dos materiais e confecção da chave de identificação das espécies ocorrentes no Brasil. Dentre as espécies citadas para o país, apenas cinco pertencem à *Amanita* seção *Vaginatae*, sendo elas: *Amanita coacta* Bas, *Amanita craseoderma* Bas, *Amanita crebresulcata* Bas, *Amanita lippiae* Wartchow & Tulloss, *Amanita tenacipulvis* Wartchow. Quatro dessas espécies foram descritas ou trabalhadas recentemente, como é o caso de *Amanita coacta*, descrita por Bas (1978) e acuradamente estudada por Menolli et al. (2009); *Amanita tenacipulvis*, coletada por Singer em 1981 e descrita por Wartchow (2015), a partir de material herborizado; *Amanita lippiae*, descrita no trabalho de Wartchow et al. (2009); e *Amanita crebresulcata* descrita por Bas (1978) e apresentada por Wartchow & Maia (2007), ambos trabalhos sem fotografias mas com desenhos macromorfológicos. *Amanita craseoderma*, descrita por Bas (1978) (com desenhos macromorfológicos) e recoletada no trabalho de Capelari & Maziero (1988), não teve citações recentes na literatura.

Juntamente a esses dados da literatura e as descrições das espécies coletadas durante este trabalho, foi elaborada uma chave de

identificação morfológica para as espécies de *Amanita* seção *Vaginatae* ocorrentes no Brasil.

**Chave dicotômica das espécies de *Amanita* seção *Vaginatae* ocorrentes no Brasil**

1. Basidiomas com volva tipicamente sacada e branca, geralmente sem escamas .....2
- 1'. Basidiomas com volva sutilmente sacada e/ou formando zonas transversais ao redor da porção inferior do estipe.....5
2. Volva espessa, geralmente se rompendo em uma grande e única fenda.....3
- 2'. Volva delgada, geralmente se rompendo no ápice .....4
3. Píleo fortemente convexo, com coloração marrom clara, ocre ou alaranjada, píleo com até 50 mm de diâmetro.....*Amanita* sp. 3
- 3'. Píleo plano, com coloração marrom esverdeada, píleo maior que 100 mm de diâmetro .....*Amanita* sp. 4
4. Estipe pálido, branco a bege, basidiósporos alongados (Q=1,84), ocorrendo em vegetação de restinga em solo arenoso .....*Amanita* sp. 1
- 4'. Estipe com fibrilas marrom escuras, basidiósporos subglobosos a amplamente elipsoides (Q=1,1-1,4), ocorrendo em solo argiloso.....*Amanita crebresulcata* Bas
5. Estipe tipicamente cilíndrico .....6
- 5'. Estipe com base abruptamente bulbosa .....  
.....*Amanita lippiae* Wartchow & Tulloss
6. Porção superior da volva com coloração alaranjada .....  
.....*Amanita tenacipulvis* Wartchow
- 6'. Porção superior da volva de coloração branca ou cinza .....7
7. Estipe cinza escuro em toda sua extensão, geralmente punctado, volva curta e totalmente aderida ao estipe .....8
- 7'. Estipe branco a bege, ou com colorações amarronzadas apenas na altura central, volva com bordas livres do estipe .....9
8. Superfície do píleo tendendo a uma cútis com hifas infladas de 2,5 até 25 µm de diâmetro ..... *Amanita craseoderma* Bas
- 8'. Superfície do píleo ixoixotricodermal com hifas delgadas de 2 a 6 µm de diâmetro.....*Amanita* sp. 5
9. Volva frágil, de coloração cinza, basidiósporos elipsoides, com Q' igual ou superior a 1,40.....*Amanita* sp. 2



- 9°. Volva de coloração branca na porção inferior e cinza na porção superior, basidiósporos amplamente elipsoides com Q' até 1,30 ..... **10**
10. Volva com aspecto mais submembranoso do que feltrado formando cinturões transversais em torno do estipe, píleo com pigmentos acinzentados, estipe com presença de fibrilas acinzentadas principalmente na base ..... *Amanita coacta* **Bas 10°**. Volva com aspecto mais feltrado do que submembranoso, formando cinturões delgados em torno do estipe, píleo com pigmentos amarronzados, estipe pálido, geralmente sem fibrilas contrastantes ..... *Amanita* **sp. 6**

## Taxonomia

*Amanita coacta* **Bas** Persoonia 10(1): 15 (1978) (Figura 2 e Figura 10 A, B e C)

**Píleo** 25–80 mm de diâmetro, parabólico quando imaturo, plano-convexo com a borda orientada para cima quando maduro, cinza escuro amarronzado (OAC 637, OAC639, OAC 901) no centro, se tornando marrom acinzentado pálido (OAC 723) a cinza esbranquiçado (OAC 907) em direção à margem, margem reta, até metade do diâmetro do píleo sulcado a estriado, superfície seca a subvísida. **Lamelas** livres a levemente sinuadas, até 6 mm de altura, estreitas, esbranquiçadas (OAC 909, OAC 7), margem inteira, secas, próximas a muito próximas, lamélulas presentes. **Estipe** central, 73–145 × 4–8 (ápice) 8–10 (base) mm, subcilíndrico, com a base levemente clavada, sem bulbo, esbranquiçado com pequenas fibrilas marrons (OAC 647) do ápice até a porção mediana e esquamulas acinzentadas mais para a base (OAC 906), firme, fistuloso. **Contexto do píleo** branco (OAC 909), até 5 mm de espessura, firme e macio. **Contexto do estipe** branco (OAC 909), até 4 mm de espessura, macio e firme. **Remanescentes do véu universal no píleo** na forma de escamas cinzas (OAC 907), de cerca de 4–5 mm de diâmetro, aderidas ao píleo com as bordas levemente levantadas ou com formato mais piramidal. **Remanescentes do véu universal no estipe** submembranosa, formando zonas transversais na porção superior, de coloração cinza (OAC 906), 6 mm de altura e na porção mais basal do estipe continuando como uma discreta volva saculiforme, de coloração

creme (OAC 816), tamanho total da volva de 11 mm de altura e 13 mm de altura. **Remanescentes do véu parcial** ausentes.

**Basidiósporos** (–6) 7–9 × 6–7 (–8) μm ( $Q' = 1,17$ ), amplamente elipsoides, parede lisa e fina, gutulados, inamiloides, hialinos. **Basídios** 24–44 × 10–12 μm, calvados, parede lisa e fina, gutulados, até 4 esterigmas de 2–5 μm de comprimento. **Subhimênio** do tipo celular de até 42 μm de espessura, com 2–5 camadas de hifas ± isodiamétricas de 10–15 (–18) × 9–12 μm, de parede lisa e fina, hialinas. **Trama da lamela** bilateral, discretamente divergente, com um delgado estrato central, hifas filamentosas de 2–6 μm de diâmetro, presença de hifas infladas de (–8) 10–17 μm de diâmetro. **Superfície do píleo** composta de uma camada ixoixotricodermal, cerca de 250 μm de espessura total, superfície externa do píleo hialina, cerca de 150 μm de largura total e superfície interna do píleo de coloração marrom, cerca de 100 μm de largura total, hifas de parede lisa e fina variando entre 1 a 7 μm de diâmetro. **Contexto do píleo** camada ixotricodermal, cerca de 150 μm de largura total, superfície externa do píleo hialina, cerca de 150 μm de largura total e superfície interna do píleo de coloração marrom, cerca de 100 μm de largura total, hifas de parede lisa e fina variando entre 1 a 7 μm de diâmetro. **Contexto do estipe** compost de hifas longitudinalmente organizadas, medindo 2–10 μm de diâmetro e acrofisálides de 16–40 μm de diâmetro, de parede lisa e fina, com presença de hifas oleíferas de 7–20 μm de diâmetro. **Remanescentes do véu universal no píleo** composto de hifas infladas, ovoides a subglobosas de 21–40 (–45) × (13–) 16–31 (–36) μm, de parede lisa e fina, hialinas. **Remanescentes do véu universal no estipe** compost de hifas infladas, ovoides a subglobosas de (16–) 21–52 (–60) × (12–) 20–48 μm, de parede lisa e fina, hialinas. **Fíbulas** ausentes.

**Hábito e hábitat** Solitário ou crescendo próximos, em solo arenoso, em vegetação de restinga, em área dominada por *Psidium* sp. (Myrtaceae) e *Ocotea* sp. (Lauraceae).

**Espécime examinado** BRASIL. SANTA CATARINA: Florianópolis, Lagoinha do Leste, trilha do Pântano do Sul, 18 Mar 2014, *Magnago* AC 954; 25 Out 2018, *Furtado* ANM 636; Santo Amaro da Imperatriz, Hotel Plaza Caldas da Imperatriz, Trilha da Cachoeira, 09 Dez 2017, *Scheibler* G 067.

**Comentários:** *Amanita coacta* Bas caracteriza-se principalmente pelos esporos inamilóides, borda do píleo densamente sulcada, estipe

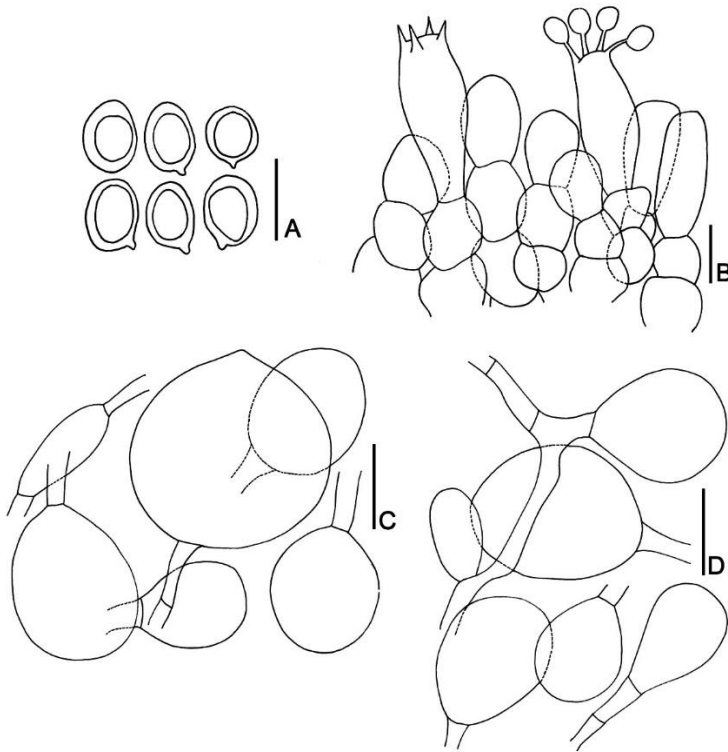
subcilíndrico não-bulboso e volva submembranosa feltrada (Menolli et al. 2009).

Uma característica distintiva da espécie e bem observada nos materiais coletados é a presença de uma porção da volva na forma de um cinturão transversal que se rompe da porção sacada aderida a base do estipe quando este aumenta de comprimento.

É importante mencionar a variedade de tons de coloração (Figura 10 A, B e C) vista nas três coleções agrupadas nesta espécie pela filogenia (Figura 1). As coletas ACM 954 e GS 067 (de localidades diferentes de Santa Catarina) apresentaram um píleo com coloração marrom escuro, ao passo que ANMF 636 (coletada no mesmo lugar que ACM 954) apresentou um píleo de coloração cinza pálido, quase branco.

Isso demonstra como o tom de coloração pode ser, às vezes, não tão considerável para o reconhecimento das espécies, pois a mesma pode ser influenciada pela umidade, pH e composição do substrato.

*Amanita coacta* já foi citada para o Amazonas (Bas 1978) e São Paulo (Grandi et al. 1984; Menolli et al. 2009), sendo este o primeiro registro para a região Sul do Brasil assim como para o estado de Santa Catarina.



**Figura 2.** Microcaracterísticas de *Amanita coacta*. A: basidiósporos; B: basídios e subhímênio; C: remanescentes do véu universal no estipe; D: remanescentes do véu universal no píleo. Barras A e B: 10  $\mu$ m; Barras C e D: 20  $\mu$ m.

***Amanita crebresulcata* Bas** Persoonia 10(1): 18 (1978) (Figura 3 e Figura 10 B)

**Píleo** 80 mm de diâmetro, convexo a plano, margem reta, marrom acinzentado escuro no centro (OAC 841, OAC 826, OAC 638), seco, superfície lisa, margem sulcada ocupando metade do diâmetro do píleo.

**Lamelas** livres a sinuadas, estreitas, próximas, margem inteira, secas, com lamélulas presentes, coloração branca a bege (OAC 909 a OAC 816), com a margem de coloração cinza claro (OAC 802). **Estipe** central, 130  $\times$  8 mm, cilíndrico, fibriloso marrom (OAC 641), com a porção mais basal de coloração bege (OAC 816). **Remanescente do véu universal no píleo**

ausentes no basidioma analisado. **Remanescentes do véu universal na base** na forma de uma volva sacada, de coloração branca (OAC 909), 15 × 10 mm. **Remanescentes do véu parcial** ausentes.

**Basidiósporos** (7,5–)8–10,5 × (5,5–)7–8(–8,5) μm ( $Q^2 = 1,16$ ), subglobosos a amplamente elipsoides, em diversos estágios de maturação, portanto com uma ampla variação, parede lisa e fina, gutulados, apiculados, hialinos, inamiloides. **Basídios** 34–43 × 12–16 μm, clavados, de parede lisa e fina, com até 4 esterigmas medindo 2,5–5 μm de comprimento, gutulados, hialinos. **Subhimênio** do tipo celular, com hifas ± isodiamétricas de diferentes formatos medindo 5–16 × 7–18 μm, de parede lisa e fina, hialinas. **Trama da lamela** entrelaçada a sutilmente divergente, de difícil distinção, hifas medindo 3–20 μm de diâmetro, cilíndricas a irregulares, com presença de acrofisálides, de parede lisa e fina, hialinas, sem fíbulas. **Contexto do píleo** composto de hifas cilíndricas a irregulares medindo 3–20 μm de diâmetro, de parede lisa e fina, formando uma rede frouxa com presença de acrofisálides, hialinas, sem fíbulas. **Superfície do píleo** na forma de uma cútis frouxa de ±135 μm de espessura total, com hifas cilíndricas de 2–12 μm de diâmetro, de parede lisa e fina, pigmentadas de marrom claro, com presença relativamente abundante de hifas oleíferas medindo 3–15 μm de diâmetro, sem fíbulas. **Contexto do estipe** composto de hifas cilíndricas com acrofisálides medindo 3–25 μm de diâmetro, de parede lisa e fina, organizadas paralelamente, hialinas, com presença de hifas oleíferas, sem fíbulas. **Superfície do estipe** na forma de uma cútis de ± 40 μm de espessura total, com hifas cilíndricas de 2–11 μm de diâmetro, com ápices arredondados, de parede lisa e fina, pigmentadas de marrom, sem fíbulas. **Remanescentes do véu universal no estipe** composto por hifas globosas, ou alongadas com o centro comprimido e com formatos irregulares, medindo 20–80 × 15–46 μm, de parede lisa e fina, hialinas, sem fíbulas. **Fíbulas** ausentes.

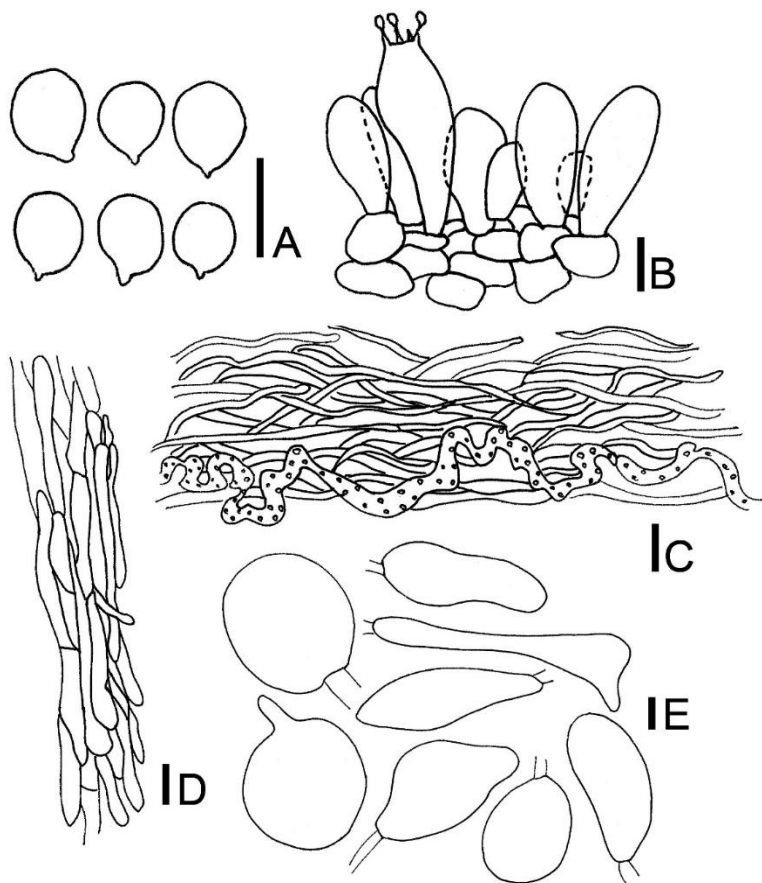
**Hábito e hábitat:** Solitário, crescendo no solo da Floresta Amazônica.

**Espécimes examinados:** BRASIL. MATO GROSSO: Alta Floresta, Reserva Particular do Patrimônio Natural Cristalino, Trilha Dr. Haffiners, 30 Dez 2016, *CJL 204*.

**Comentários:** *Amanita crebresulcata* é caracterizada principalmente por sua volva sacada, não deixando remanescentes dela acima do estipe, como descrito para *Amanita coacta* (Bas 1978). Este táxon é muito semelhante a *Amanita* sp. 1, agrupando inclusive no mesmo clado na filogenia da

região ITS (Figura 1). Contudo, morfologicamente, diverge principalmente no píleo pela coloração mais escura e maior comprimento de seus sulcos, além de formar uma leve depressão no centro, onde se conecta com o estipe em *A. crebresulcata*. Apresenta fibrilas marrons no estipe, característica não observada em nenhuma das coletas de *Amanita* sp. 1. Além disso, os basidiósporos possuem uma maior largura e há a frequente presença de hifas oleíferas em *A. crebresulcata*. Outro fator a ser levado em consideração e que corrobora a identificação deste espécime é o substrato no qual foi encontrado, solo de Floresta Amazônica, local onde o tipo da espécie foi descrito por Bas (1978).

Esta espécie já foi citada para o Paraná (Meijer 2006), Paraíba (Magnago et al. 2015) e Pernambuco (Wartchow & Maia 2007) em Mata Atlântica, além da Amazônia (Bas 1978) onde foi coletada e tipificada. Este é o primeiro registro da espécie para o estado do Mato Grosso e o primeiro registro de material macroscópico fotografado fresco, visto que as antigas citações e descrições constam apenas com ilustrações da mesma.



**Figura 3.** Microcaracterísticas de *Amanita crebresulcata*. A: basidiósporos; B: basídios e subhimênio; C: superfície do píleo; D: superfície do estipe; E: remanescentes do véu universal no estipe. Barras: 10  $\mu$ m.

***Amanita* sp. 1** (Figura 4 e Figura 10 E, F, G e H)

**Píleo** 16–90 mm de diâmetro, plano a convexo a levemente depresso (quando maduro), marrom acinzentado claro (OAC 661, OAC 732, OAC 781, OAC 738) nas margens, marrom acinzentado na porção mediana (OAC 723, OAC 770) e marrom escuro (OAC 639, OAC 768, OAC 641, OAC 737) a quase negro (OAC 901) no centro, margem reta e sulcada a estriada, superfície lisa e seca. **Lamelas** livres a quase sinuadas, brancas (OAC 909) a creme (OAC 816, OAC 7) a amarelo-queimado-claro a amarelo-oliva quando maduras (OAC 808), próximas, com lamélulas presentes em diferentes comprimentos, amplas a estreitas, margem inteira, 2–5 mm de altura. **Estipe** central, 70–130 × 4–5 (ápice) 5–15 (base) mm, cilíndrico a levemente clavado, base levemente bulbosa, branco a creme claro (OAC 909, OAC 816) a acinzentado (OAC 802), com flóculos brancos na superfície (OAC 909), fibriloso, seco, textura firme, oco. **Contexto do píleo** branco (OAC 909), até 1–25 mm de espessura no centro, textura macia/firme, sem mudança de coloração após exposição. **Contexto do estipe** até 1,5–3 mm de espessura, branco (OAC 909), macio/firme, sem mudança de coloração após exposição. **Remanescentes do véu universal no píleo** na forma de escamas acinzentadas de 2 mm de diâmetro, cinzas (OAC 906) a brancas (OAC 909), bem aderidas ao píleo podendo se apresentar apenas como uma única escama no centro do píleo ou até mesmo estarem ausentes. **Remanescente do véu universal no estipe** na forma de uma volva sacada a napiforme, 17–33 × 7–13 mm, branca (OAC 909) a cinza claro (OAC 907), ápices amplamente sacados, base levemente amarelada (OAC 814), interior branco (OAC 909). **Remanescentes do véu parcial** ausentes, porém em poucos basidiomas presença de uma linha tênue próxima a volva, provavelmente demarcando a presença do local do anel. **Basidiósporos** (9–)12–14 × (5–)6–7 μm ( $Q' = 1,84$ ), alongados, parede lisa e fina, gutulados, inamiloides, hialinos. **Basídios** 31–43 × 12–16 μm, calvados, parede lisa e fina, gutulados, 3–5 esterigmas de 2–5 μm de comprimento. Presença de hifas globosas na largem da lamela. **Subhimênio** do tipo celular, de até 37 μm de espessura, com 2–4 camadas de hifas ± isodiamétricas de 10–13 × 9–13 μm, de parede lisa e fina, hialinas. **Trama da lamela** bilateral, discretamente divergente, com um estrato cental com hifas filamentosas de 3–6 μm de diâmetro e hifas infladas de 7–11 μm de diâmetro. **Contexto do píleo** composto por hifas delgadas de 3–8 μm de diâmetro e infladas de 12–25 μm de diâmetro,



globosas a alongadas, de parede lisa e fina, hialinas. **Superfície do píleo** uma ixotricoderme de  $\pm 250 \mu\text{m}$  de espessura, composta de hifas delgadas gelatinizadas, não distintas em superfície interna do píleo e superfície externa do píleo. **Contexto do estipe** composto de acrofisálides longitudinalmente organizadas de parede lisa e fina, de  $14\text{--}25 \mu\text{m}$  de diâmetro, e hifas delgadas de  $3\text{--}5 \mu\text{m}$  de diâmetro. **Remanescentes do véu universal no píleo** composto de hifas ovoides a subglobosas,  $35\text{--}55 \times 25\text{--}50 \mu\text{m}$ , parede lisa e fina, hialinas. **Remanescentes do véu universal no estipe** composto de hifas ovoides a subglobosas de  $25\text{--}56 \times 21\text{--}50 \mu\text{m}$ , de parede lisa e fina, hialinas. **Fíbulas** ausentes.

**Hábito e hábitat:** solitário ou crescendo próximos, em solo arenoso, em área de restinga, crescendo próximo a *Guapira opposita*, *Clusea* sp., Myrtaceae, *Ocotea* sp. (Lauraceae) e samambaias (monilófitas) ou em solo terroso com serapilheira, mas próximo à área de restinga.

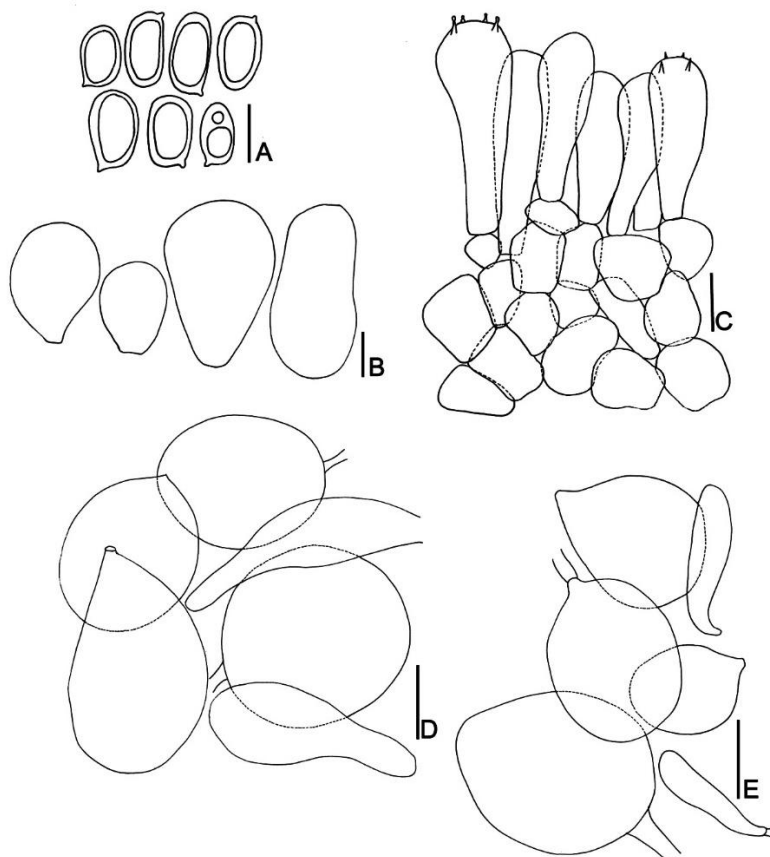
**Espécimes examinados:** BRASIL. SANTA CATARINA: Florianópolis, Parque Municipal das Dunas da Lagoa da Conceição, Out 2013, *Magnago AC 602*; Florianópolis, Parque Municipal das Dunas da Lagoa da Conceição, 26 Nov 2013, *Magnago AC 845*; Florianópolis, Parque Municipal da Lagoa do Peri, Trilha da Preguiça, 19 Mar 2014, *Magnago AC 970*; Florianópolis, Parque Municipal Lagoa do Peri, 04 Mar 2017, *Oliveira CAT 180*; Florianópolis, Parque Municipal das Dunas da Lagoa da Conceição, 03 Abr 2017, *Scheibler G 032*; Florianópolis, Parque Municipal da Lagoa do Peri, 02 Dez 2017, *Scheibler G 065*; Florianópolis, Parque Municipal da Lagoa do Peri, Trilha da Gurita, 03 Dez 2017, *Scheibler G 066*; Florianópolis, Parque Municipal da Lagoa do Peri, 02 Abr 2018, *Scheibler G 084*, *Scheibler G 091*, *Scheibler G 092*; Florianópolis, Parque Municipal da Lagoa do Peri, Trilha do Guarani, 03 Abr 2018, *Scheibler G 085*, *Scheibler G 086*; Florianópolis, Parque Municipal da Lagoa do Peri, 05 Abr 2018, *Scheibler G 087*, *Scheibler G 088*, *Scheibler G 089*, *Scheibler G 090*; Florianópolis, Parque Municipal da Lagoa do Peri, 12 Mai 2018, *Scheibler G 094*, *Scheibler G 095*.

**Comentários:** Muito semelhante a *Amanita dunicola* Guzmán descrita e citada para Yucatan, no México (Guzmán 1982, 1986), principalmente pela macromorfologia total, superfície do píleo e pelo substrato de restinga. *Amanita dunicola* aparece registrada no herbário do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia em uma coleta anterior à descrição formal, sobre solo na Floresta Amazônica (Amazonas) em 1978, realizada

por Singer e identificada por Guzmán, contudo não há nenhum trabalho citando-a.

Quanto à microscopia, há uma divergência no tamanho dos basidiósporos das duas espécies, maiores em *A. dunicola* [(9,9-) 11–12,5 (-13,5) × 8–9 μm], assim como dos basídios (50–70 × 13–16 μm), de acordo com Guzmán (1982, 1986). Outra divergência é a presença de fíbulas na base dos basídios, descrita no protólogo do material. Contudo, a presença de fíbulas na base dos basídios ainda não foi descrita como presente em espécies de *Amanita* seção *Vaginatae*.

Devido a isso, uma análise morfológica – e, se possível, filogenética molecular – tanto do material tipo, quanto do material coletado por Singer em 1978, seria de suma importância para a correta identificação dos espécimes coletados durante este trabalho.



**Figura 4.** Microcaracterísticas de *Amanita* sp. 1. A: basidiósporos; B: hifas globosas da margem das lamelas; C: basídios e subhímênio; D: remanescentes do véu universal no estipe; E: remanescentes do véu universal no píleo. Barras: 10  $\mu$ m.

***Amanita* sp. 2** (Figura 5 e Figura 10 I)

**Píleo** 57–72 mm de diâmetro, convexo a levemente depresso, margem reta, cinza escuro no centro (OAC 901), marrom escuro entre o centro e a margem (OAC 640) e marrom acinzentado nas bordas (OAC 724),

superfície seca, liso, margem estriada sulcada. **Contexto púleo** até 3 mm de espessura, branco (OAC 909), textura macia a firme, sem mudança de coloração após exposição. **Lamelas** livres, até 5 mm de altura, próximas, margem inteira, lamélulas presentes em 3 a 4 comprimentos diferentes, coloração creme (OAC 816). **Estipe** central, 140–144 mm X 8–10 mm de diâmetro, cilíndrico, coloração creme acinzentado na porção mais basal e apical (OAC 809) e cinza claro na porção mediana (OAC 725), textura firme e levemente fibrosa, interior oco. **Contexto do estipe** 3 mm de espessura, branco (OAC 909), firme, macio a levemente fibriloso. **Remanescentes do véu universal no púleo** presente na forma de duas escamas brancas (OAC 909), no centro do púleo do maior basidioma, medindo 10 mm de diâmetro cada uma. **Remanescentes do véu universal no estipe** presente na forma de uma volva sacada, 10–15 mm de altura X 14–16 mm de largura, acinzentada (OAC 725 – OAC 732), bem aderida ao estipe e ao substrato, delicada mas não membranosa, rompendo-se na retirada do substrato terrestre, presença de remanescentes na forma de duas manchas aderidas do estipe se assemelhando a um anel no estipe do maior basidioma. **Remanescente do véu parcial** ausente.

**Basidiósporos** (8–)9–12 × (6–)7–8(–9)  $\mu\text{m}$  (Q'= 1,40), elipsoides, parede lisa e fina, hialinos, gutulados, apiculados, inamiloides. **Basídios** 39–56 × 12–16  $\mu\text{m}$ , clavados, alongados, parede lisa e fina, gutulados, hialinos, com 4 esterigmas. **Esterigmas** 4 esterigmas, 3–5(–6)  $\mu\text{m}$ , hialinos. **Subhímênio** do tipo celular, com hifas  $\pm$  isodiamétricas a globosas, medindo 6–22 × 6–17  $\mu\text{m}$ , parede lisa e fina, total de 3–4 camadas de hifas, hialinas. **Trama da lamela** levemente divergente, com hifas de diferentes formatos, variando de cilíndricas a elipsoides a globosas, com diâmetro de 3–18  $\mu\text{m}$ , sem distinção de um estrato central, parede lisa e fina, algumas gutuladas, hialinas, inamiloides. **Contexto do púleo** hifas cilíndricas de 3–20  $\mu\text{m}$  de diâmetro, de parede lisa e fina, formando uma rede de hifas próximas às outras, hialinas. **Superfície do púleo** ixotricodermal, densamente gelatinizada, com superfície externa do púleo ixotricodermal gelatinizada, com hifas cilíndricas, de 2–7,5  $\mu\text{m}$  de diâmetro, septadas, frouxamente arranjadas, de parede lisa e fina, imersas numa mucilagem hialina, algumas ramificadas, com ápice das hifas terminais arredondadas, com camada total de  $\pm$  230  $\mu\text{m}$  de diâmetro, sem fíbulas; superfície interna do púleo formando uma camada mais densa, mas não tão organizada quanto o contexto do púleo, formando uma camada  $\pm$  frouxa, com hifas cilíndricas a elipsoides de 4–20  $\mu\text{m}$  de

diâmetro, de parede lisa e fina, hialinas, totalizando uma camada de  $\pm 100$   $\mu\text{m}$  de diâmetro, sem fíbulas. **Contexto do estipe** composto de hifas mais finas e acrofisáides, de 4–36  $\mu\text{m}$  de diâmetro, ambas de parede lisa e fina, organizadas paralelamente, hialinas, sem fíbulas. **Superfície do estipe** composto de hifas cilíndricas de 2–8  $\mu\text{m}$  de diâmetro, de parede lisa e fina, formando uma fina córtis com pouca diferenciação em relação ao contexto do estipe, com ápices arredondados, hialinas, sem fíbulas. **Remanescentes do véu universal no píleo** hifas globosas a elipsoides de 23–69  $\times$  15–56  $\mu\text{m}$ , de parede lisa e fina a levemente incrustadas, sendo as mais globosas hialinas e as elipsoides mais incrustadas na visualização com corante Vermelho Congo, na base estão ancoradas por hifas cilíndricas, algumas com diâmetro maior do que o comprimento, de parede lisa e fina, hialinas, sem fíbulas. **Remanescentes do véu universal no estipe** formada por hifas cilíndricas a globosas, de 19–71  $\times$  13–35  $\mu\text{m}$ , de parede lisa e fina a levemente espessada (até 1  $\mu\text{m}$  de espessura), com leves incrustações, sem fíbulas. **Fíbulas** ausentes.

**Hábito e hábitat:** crescendo próximos, em solo, em Floresta Ombrófila Densa, em período de alta pluviosidade.

**Espécimes examinados:** BRASIL. SANTA CATARINA. Florianópolis, Unidade Ambiental Desterro (UCAD), 28 Mar 2017, *Scheibler G 026*.

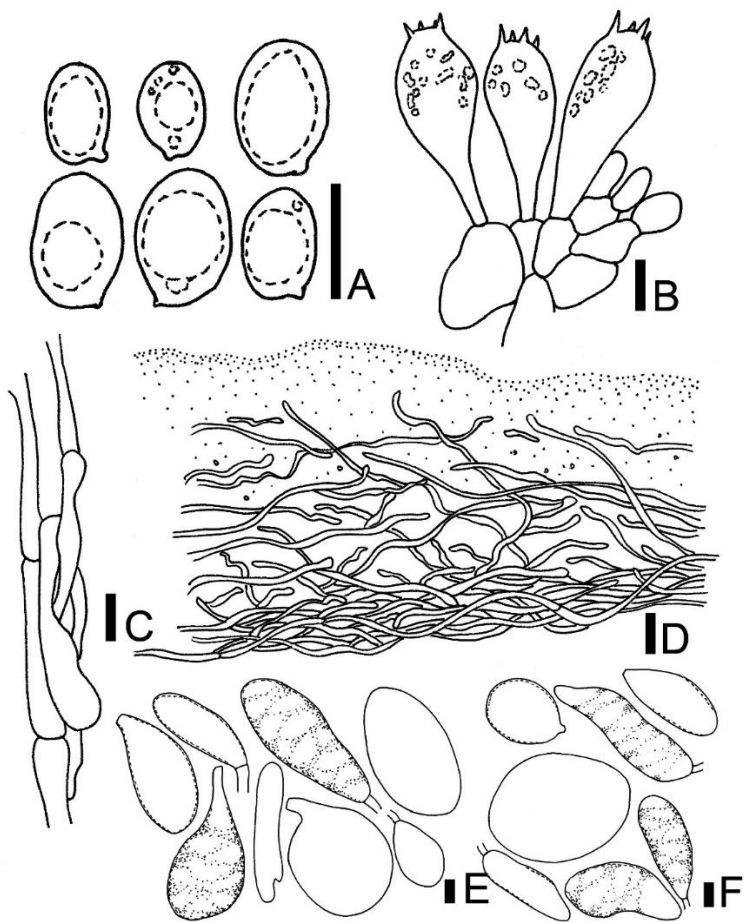
**Comentários:** *Amanita* sp. 2 se assemelha muito com a descrição macroscópica e microscópica de *Amanita coacta* Bas. Ambas possuem a volva curtamente sacada, submembranosa-feltrada, de coloração acinzentada, píleo marrom acinzentado, estriado-sulcado de  $\frac{1}{2}$  a  $\frac{1}{3}$  das bordas ao centro, presença de escamas acinzentadas e formato do estipe.

Microscopicamente, não há uma significativa divergência quanto ao tamanho dos basidiósporos, basídios e subhímênio, comparados ao protólogo feito por Bas (1978) e com os materiais descritos por Menolli et al. (2009). As únicas diferenças plausíveis de atenção seriam o diâmetro dos basídios, variando de 8,7–13,7  $\mu\text{m}$  na descrição do tipo feita por Bas (1978) e na realizada por Menolli et al. (2009) sendo que o diâmetro dos basídios analisados na descrição deste trabalho foi de 12–16  $\mu\text{m}$ .

Outra sutil diferença encontrada foram os formatos de escamas, sendo mais numerosas, achatadas e compridas nos materiais descritos por Menolli et al. (2009) enquanto o material analisado neste trabalho apresentou escamas menores, em menor número e arredondadas. Entretanto, sabe-se que essa informação pode ser subjetiva, pois a

presença, coloração e formato dos remanescentes do véu universal no píleo (assim como coloração do basidioma) podem variar amplamente conforme umidade, incidência de luminosidade e outras características do substrato.

*Amanita* sp. 2 e *Amanita* sp. 6 mostraram muitas semelhantes morfológicas com *Amanita coacta*, porém ficando afastadas em análises filogenéticas da região ITS. Isso poderia indicar a ocorrência de espécies crípticas, sendo este tópico melhor abordado na seção Resultados e Discussão desta dissertação.



**Figura 5.** Microcaracterísticas de *Amanita* sp. 2. A: basidiósporos; B: basídios e subhimênio; C: superfície do estipe; D: superfície do píleo; E: remanescentes do véu universal no estipe; F: remanescentes do véu universal no píleo. Barras: 10  $\mu$ m.

***Amanita sp. 3*** (Figura 6 e Figura 11 A e B)

***Péleo*** 35 mm de diâmetro, convexo, margem reta, marrom alaranjado (OAC 717), liso, da porção mediana até a margem amplamente sulcada e de coloração bege (OAC 794), contexto branco (OAC 909). ***Lamelas*** livres a emarginadas, coloração creme (OAC 816), amplas, próximas, margem inteira, lamélulas presentes. ***Estipe*** 100 × 15 mm, central, cilíndrico, coloração branca (OAC 909), escabroso com a porção superior parecendo escamulosa, liso na porção protegida pela volva, firme. ***Remanescentes do véu universal no péleo*** ausentes no material examinado. ***Remanescentes do véu universal no estipe*** na forma de uma volva amplamente sacada, firme, com 30 mm de comprimento e 20 mm de diâmetro, coloração branca (OAC 909), com cerca de 3 mm de espessura nas margens. ***Remanescentes do véu parcial*** ausentes no material examinado.

***Basidiósporos*** 8–11 × 6–8,5 µm (Q'= 1,31), amplamente elipsoides a elipsoides, parede lisa e fina, gutulados, com apículo evidente, inamiloides, hialinos. ***Basídios*** 41–52 × 11–15 µm, clavados, parede lisa e fina, gutulados, hialinos, com 4 esterigmas medindo de 2–5 µm de comprimento. ***Subhímênio*** do tipo celular, com hifas retangulares a anguladas ± isodiamétricas, medindo 10–20 × 8–16 µm, de parede lisa e fina, hialinas. ***Trama da lamella*** irregular, sem distinção de estrato central e estrato lateral, com hifas delgadas a infladas (acrofisálides) de parede lisa e fina, medindo de 3–18 (–31) µm de diâmetro, hialinas. ***Contexto do péleo*** composto por hifas cilíndricas entrelaçadas, 3–21 µm de diâmetro, de parede lisa e fina, hialinas, presença frequente de hifas oleíferas com conteúdo de difícil distinção. ***Superfície do péleo*** na forma de uma cútis de camada total de ± 40 µm de diâmetro, não gelatinizada, com hifas cilíndricas de parede lisa e fina, medindo 2–5 µm de diâmetro, hialinas, sem fibulas. ***Contexto do estipe*** composto de hifas cilíndricas delgadas a infladas (acrofisálides), de 3–16 µm de diâmetro, de parede lisa e fina, organizadas paralelamente, hialinas, com presença de hifas oleíferas, sem fibulas. ***Superfície do estipe*** cútis de hifas cilíndricas de difícil distinção, medindo 3–8 (–10) µm de diâmetro, de parede lisa e fina, hialinas, com presença de hifas com conteúdo uniforme amarelado, sem fibulas. ***Remanescentes do véu universal no estipe*** composto de hifas hifas cilíndricas de parede lisa e fina, organizadas paralelamente, suportando hifas globosas a piriformes, medindo 38–80 (–109) × 12–61 µm, de



parede lisa e fina, esparças nos dois basidiomas analisados, hialinas, sem fibulas. *Fibulas* ausentes.

**Hábito e hábitat:** crescendo próximos, em solo argiloso.

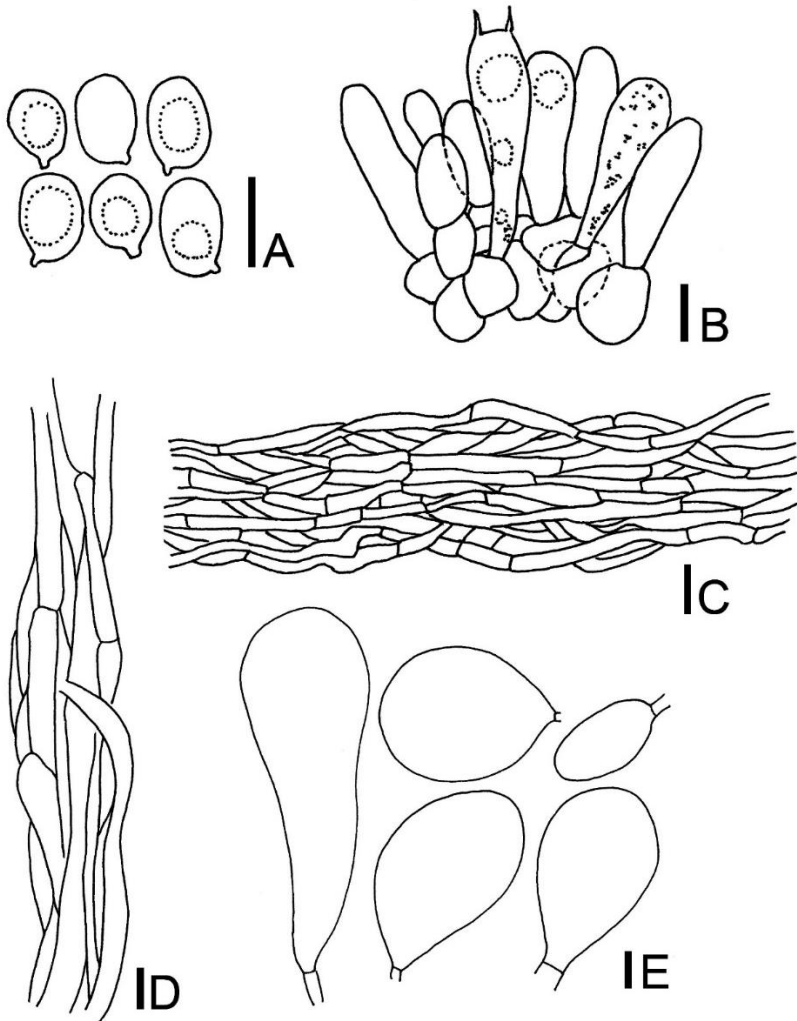
**Espécime examinado:** BRASIL, MATO GROSSO. Alta Floresta, Reserva Particular do Patrimônio Natural Cristalino, Trilha da Castanheira 9°33'52"S 55°54'19"W, elevação 250 metros, 24 Jan 2018, *Simon-Cardoso J 267*.

**Comentários:** Este táxon é caracterizado principalmente pela volva fortemente sacada e espessa, de coloração totalmente branca, píleo com coloração ocre e estipe branco tendendo a dar a impressão de possuir esquamulas também brancas.

*Amanita* sp. 3 assemelha-se amplamente com *Amanita lividopallescens* (Gillet) Bigeard & H. Guill. pelas características macro e microscópicas. Contudo, *Amanita lividopallescens* essa é uma espécie ocorrente em florestas temperadas do Hemisfério Norte (Vizzini et al. 2016), não correspondendo ao hábitat do espécime encontrado neste trabalho, em Floresta Amazônica.

A macroscopia das duas espécies é similar no formato do basidioma, coloração do píleo, estipe, himenóforo e volva, mas difere no formato da volva – sendo mais sacada, com maior proporção e com uma visível única fenda de corte em *Amanita* sp. 3. Na microscopia as características da volva, superfície do estipe, superfície do píleo e basídios são semelhantes em formato e tamanho das estruturas (Ortega & Contu 2003; Vizzini et al. 2016), contudo há uma diferença morfológica nos basidiósporos, sendo estes mais globosos em *Amanita lividopallescens*.

Apenas dois basidiomas de *Amanita* sp. 3 foram analisados, sendo necessárias mais coletas a fim de um estudo mais aprofundado deste táxon.



**Figura 6.** Microcaracterísticas de *Amanita* sp. 3. A: basidiósporos; B: basídios e subhimênio; C: superfície do píleo; D: superfície do estipe; E: remanescentes do véu universal no estipe. Barras: 10  $\mu$ m.

***Amanita* sp. 4** (Figura 7 e Figura 11 C)

***Péleo*** 145 mm de diâmetro, convexo, margem reta, marrom acinzentado escuro no centro (OAC 868) e marrom acinzentado claro em direção às margens (OAC 843), superfície lisa, margem sulcada. ***Lamelas*** livres, amplas, coloração creme (OAC 816), próximas, margem inteira, lamélulas presentes. ***Estipe*** 160 × 15 mm, central, cilíndrico com base levemente clavada, coloração branco a bege (OAC 909, OAC 900), fibriloso, com a porção externa se rompendo próximo a base, firme. ***Remanescentes do véu universal no péleo*** na forma de escamas achatadas de coloração branca (OAC 909). ***Remanescentes do véu universal no estipe*** na forma de uma volva sacada, de coloração branca (OAC 909). ***Remanescentes do véu parcial*** ausentes.

***Basidiósporos*** 9–12 × 8–10 µm ( $Q' = 1,22$ ), amplamente elipsoides, parede lisa e fina, gutulados, inamoides, hialinos. ***Basídios*** (45–) 48–58 × 12–14(–16) µm, calvados, parede lisa e fina, até 4 esterigmas de 2–6 µm de comprimento. ***Hifas da margem da lamela*** infladas de 25–59 × 20–49 µm, parede lisa e fina, hialinas. ***Subhimênio*** do tipo celular, até 50 µm de espessura, com 3–4 camadas de hifas ± isodiamétricas de 13–18 × (10–)13–16 µm, parede lisa e fina, hialinas. ***Trama da lamela*** bilateral, levemente divergente, com um fino estrato central, com hifas filamentosas ramificadas de 2–6 µm de diâmetro e presença de hifas infladas de 10–25 µm diâmetro. ***Contexto do péleo*** composto de hifas filamentosas de 4–10 µm de diâmetro e hifas infladas de 12–35 µm de diâmetro, globosas a alongadas e presença de algumas hifas oleíferas. ***Superfície do péleo*** uma cutis de ± 140 µm de espessura total, levemente gelatinizada, com hifas organizadas paralelamente de 2–7 µm, hialinas. ***Contexto do estipe*** presença de acrofisálides organizadas paralelamente, medindo 11–29 µm de diâmetro e hifas delgadas de 4–9 µm de diâmetro, de parede lisa e fina. ***Remanescentes do véu universal no péleo*** composto de hifas infladas ovoides a subglobosas, algumas com formato de ampulheta, 34–104 × 23–53 µm, parede lisa e fina, hialinas, não agrupadas em escamas macroscópicas no material analisado. ***Remanescentes do véu universal no estipe*** de mesmo aspecto aos remanescentes do véu universal no péleo, medindo 31–102 × 15–56 µm. ***Fíbulas*** ausentes.

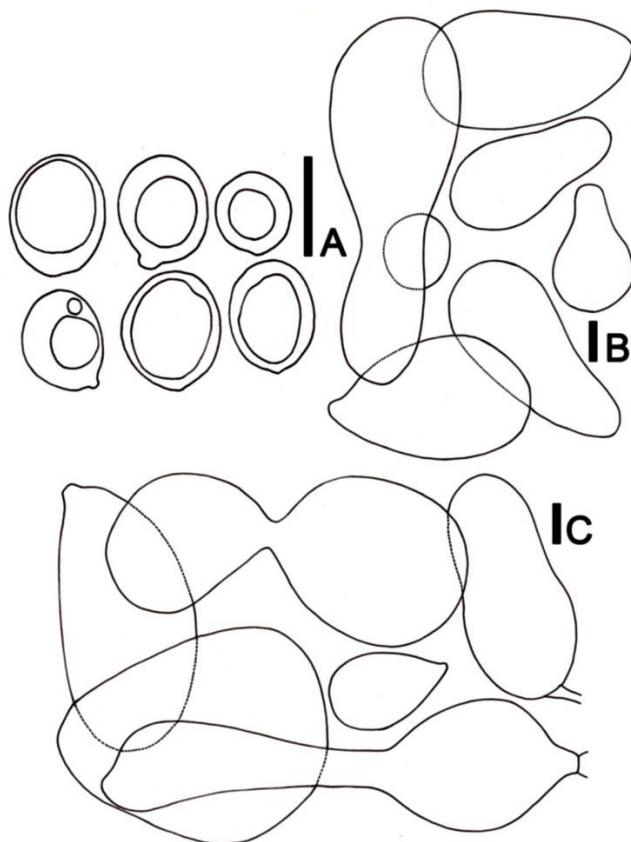
***Hábito e hábitat*** Solitário em solo em Mata Atlântica.

**Espécimes examinados** BRASIL. SANTA CATARINA: Florianópolis, Morro da Lagoa, 19 Nov 2012, Col. *Moncalvo, J-M., Neves M.A., Justo, A., JM-FLO 20.*

**Comentários:** Dentre as espécies citadas para o Brasil, *Amanita* sp. 4 se assemelha à *Amanita crebresulcata*, principalmente na forma saculiforme da volva. Contudo, difere no píleo que não apresenta tanta discrepância de coloração em relação ao centro, no tamanho dos basídios, que são menores e, principalmente, na superfície do píleo, que não se divide em superfície externa do píleo e superfície interna do píleo em *Amanita crebresulcata*. A principal diferença macroscópica visualizada é o tamanho do píleo, que chega a 75 mm de diâmetro em *Amanita crebresulcata* (Bas 1978) e a 145 mm de diâmetro em *Amanita* sp. 4.

Em relação às espécies de *Amanita* seção *Vaginatae* descritas no extenso trabalho de Cui et al. (2018), *Amanita* sp. 4 assemelha-se à *Amanita olivaceofusca* Y.Y. Cui, Q. Cai & Zhu L. Yang, tanto em caracteres macroscópicos quanto microscópicos. O formato do basidioma e a coloração olivácea do píleo são correspondentes, assim como a morfologia dos basidiósporos e da superfície do píleo, caracteres que possuem maior grau de variação entre as espécies. Todavia, *Amanita olivaceofusca* é descrita por possuir basidioma com menor tamanho e por ocorrer na China.

O espécime de *Amanita* sp. 4 foi recebido desidratado e provindo de colaboradores, sendo que sua macroscopia foi descrita com base apenas em uma fotografia do material fresco. Além disso, foi recebida a sequência finalizada de DNA da região ITS, não sendo possível avaliar a qualidade da mesma. Foi realizada a tentativa de amplificação da região LSU, contudo não foi obtido sucesso. Devido a isso, são necessárias mais coletas a fim de fazer um estudo mais aprofundado do táxon para confirmar sua identidade.



**Figura 7.** Microcaracterísticas de *Amanita* sp. 4. A: basidiósporos; B: remanescentes do véu universal no píleo; C: remanescentes do véu universal no estipe. Barras: 10  $\mu$ m.

***Amanita* sp. 5** (Figura 8 e Figura 11 D e E)

**Píleo** 65 mm de diâmetro, plano, marrom acinzentado (OAC 723, OAC 724), margem reta, escamoso, margem sulcada, superfície seca, contexto branco (OAC 909). **Lamelas** livres, amplas, coloração creme (OAC 809), próximas, margem inteira, lamélulas presentes. **Estipe** 60  $\times$  7 mm, central, coloração cinza claro no ápice (OAC 725) e cinza escuro em direção a base (OAC 903), cilíndrico, base levemente marginada depressa,

superfície com aspecto velutíneo. **Remanescentes do véu universal no píleo** na forma de escamas achatadas por toda a superfície do píleo, principalmente no centro, de coloração cinza (OAC 904). **Remanescentes do véu universal no estipe** na forma de uma volva sacada a marginada depressa, muito discreta, com base levemente fusiforme, porção mais basal de coloração creme (OAC 816) e porção mais apical de coloração cinza (OAC 904). **Remanescente do véu parcial** ausente.

**Basidiósporos** (7,5–)9–11(–11,5) × (7,5–)8,5–10(–12)  $\mu\text{m}$  ( $Q^2 = 1,01$ ), globosos, parede lisa e fina, com uma grande gútula interior, apículo evidente, inamiloides, hialinos, abundantes no material examinado. **Basídios** 34–52 × 8–15  $\mu\text{m}$ , clavados, parede lisa e fina, gutulados, com 4 esterigmas medindo 2–5  $\mu\text{m}$  de comprimento. **Subhímênio** do tipo celular, composto por hifas de diferentes formatos, suavemente anguladas a globosas, de 9–25(–35) × 9–18  $\mu\text{m}$ , de parede lisa e fina, hialinas. **Trama da lamela** entrelaçada, muito discretamente divergente, sem distinção aparente de estrato lateral e estrato central, composta de hifas cilíndricas finas a infladas (acrofisálides) de 3–26  $\mu\text{m}$  de diâmetro, podendo apresentar bifurcações, fíbulas ausentes. **Contexto do píleo** composto de hifas cilíndricas delgadas e infladas (acrofisálides), de 3–32  $\mu\text{m}$  de diâmetro, não muito longas quanto ao seu comprimento comparadas ao contexto do estipe, frouxamente arrançadas e entrelaçadas, não organizadas paralelamente, algumas hifas podendo apresentar ramificações, parede lisa e fina, hialinas, sem fíbulas. **Superfície do píleo** ixotricodermal, pouco gelatinizada, frouxamente arrançadas numa camada total de  $\pm 180\text{--}250 \mu\text{m}$ , composta de hifas cilíndricas de 2–6  $\mu\text{m}$  de diâmetro, de parede lisa e fina, discretamente pigmentadas com um conteúdo uniforme, fíbulas ausentes. **Contexto do estipe** composto de hifas cilíndricas delgadas a infladas (acrofisálides), de 3–23(–30)  $\mu\text{m}$  de diâmetro, de parede lisa e fina, organizadas paralelamente. **Superfície do estipe** semelhante a uma cútis frouxa numa camada total de 100–150  $\mu\text{m}$  de diâmetro, com hifas cilíndricas curtas, infladas, de parede lisa e fina, de 2–20  $\mu\text{m}$  de diâmetro, com ápice arredondado, algumas com pequenas gútuas, de coloração amarelada, presença de hifas ramificadas, sem fíbulas. **Remanescentes do véu universal no píleo** composto de hifas de parede lisa a levemente espessada (até 1  $\mu\text{m}$  de espessura), globosas, piriformes, cilíndricas com constrição central, medindo 21–70 × 10–57  $\mu\text{m}$ , hialinas, suportadas por hifas cilíndricas delgadas de parede lisa e levemente espessada, sem fíbulas. **Remanescentes do véu universal no**

**estipe** 22–70 × 12–51 µm, de mesmo aspecto que os remanescentes do véu universal no píleo. **Fíbulas** ausentes.

**Hábito e hábitat** solitário, crescendo em solo.

**Espécime examinado** BRASIL. SANTA CATARINA: Florianópolis, Trilha da Praia de Naufragados, próximo a Base Militar, 01 Mai 2018, *Furtado ANM 594*.

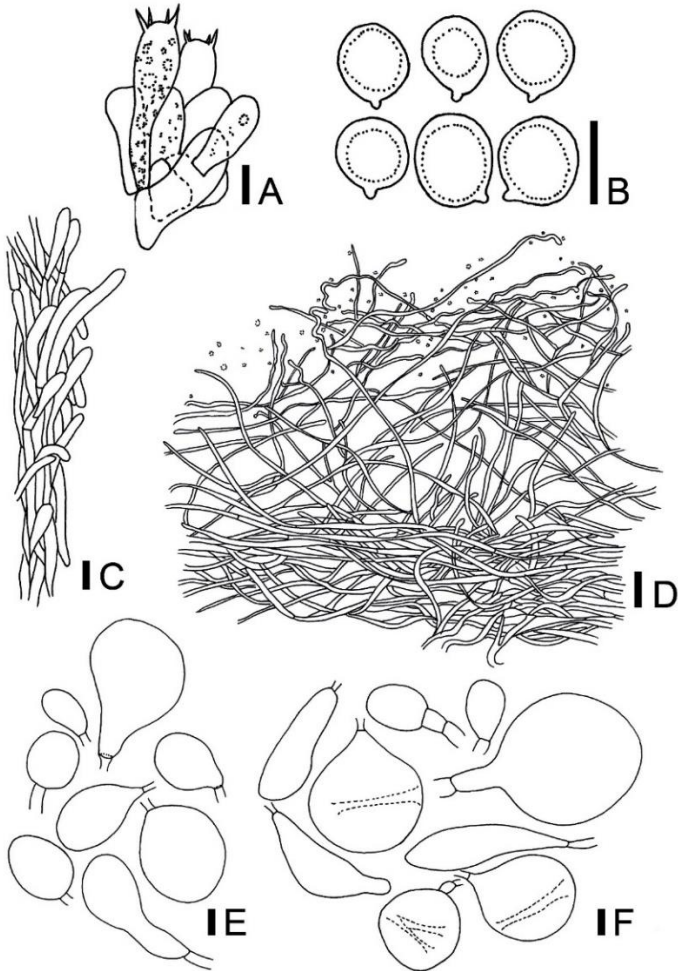
**Comentários:** Assemelha-se com *Amanita griseofolia* Zhu L. Yang descrita para a China (Yang 2004) pela coloração, formato do basidioma e características da volva. Entretanto, *Amanita* sp. 5 possui o estipe com coloração mais escura e os basidiósporos de menor tamanho, apesar de apresentar mesmo formato.

Outra espécie parecida é *Amanita cinctipes* Corner & Bas, descrita em um extenso trabalho com o gênero em Singapura e Malásia (Corner & Bas 1962). As características macro e micromorfológicas descritas no protólogo se sobrepõem ao material analisado, com exceção apenas da presença de delgadas zonas transversais na base do estipe, provavelmente causadas pelo alongamento do estipe e não observadas na coleta analisada.

*Amanita craseoderma* descrita por Bas (1978) a partir de uma coleta realizada por Singer em 1977 na Floresta Amazônica brasileira se parece muito com a descrição de *Amanita* sp. 5. Entretanto, há apenas uma ilustração do material macroscópico, havendo uma carência de detalhes acerca do basidioma. As semelhanças entre as duas espécies se dão principalmente no formato e coloração do basidioma, morfologia das escamas e volva. Há duas diferenças perceptíveis entre elas, uma no tamanho dos basidiósporos, menores em *Amanita craseoderma* (cerca de 2 µm de diferença) contudo, com mesmo formato. E a outra na morfologia da superfície do píleo, a qual se apresenta na forma de uma ixocútis mais espessa em *Amanita* sp. 5 e de uma cútis com elementos inflados de até 25 µm de diâmetro em *Amanita craseoderma*. Elementos com esse diâmetro são encontrados apenas no contexto do píleo de *Amanita* sp. 5.

Na filogenia construída com base na região ITS (Figura 1) e na região LSU (Anexo 2), *Amanita* sp. 5 não agrupou com nenhuma sequência de DNA disponíveis na plataforma GenBank. Contudo, ambas sequências disponíveis de *Amanita craseoderma* na plataforma correspondem a um único espécime e estão incluídas sem comentários acerca da sua morfologia em um trabalho de ectomicorrizas realizado por

Smith et al. (2013), e não foram levadas em consideração, portanto, no agrupamento filogenético realizado neste trabalho.



**Figura 8.** Microcaracterísticas de *Amanita* sp. 5. A: basídios e subhimênio; B: basidiósporos; C: superfície do estipe; D: superfície do píleo; E: remanescentes do véu universal no estipe; F: remanescentes do véu universal no píleo. Barras: 10  $\mu$ m.



***Amanita* sp. 6** (Figura 9 e Figura 11 F, G, H e I)

***Píleo*** até 43 mm de diâmetro, convexo aplanado (material senescente), centro com coloração marrom escuro (OAC 663), porção mediana de coloração marrom mais claro (OAC 646) e porção periférica de coloração marrom claro acinzentado (OAC 753), margem reta, superfície seca, sem remanescentes do véu aparentes, margem ao centro evidentemente sulcadas, contexto branco (OAC 909). ***Lamelas*** livres a levemente emarginadas, coloração branca (OAC 909), amplas, margem inteira a levemente serrulada, próximas. ***Estipe*** 130 × 11 mm, central, marrom claro acinzentado (OAC 753), cilíndrico, seco, levemente pruinoso, firme, fistuloso. ***Remanescentes do véu universal no píleo*** quando presentes, na forma de escamas acinzentadas na superfície do píleo, em formato arredondado a alongados, de coloração cinza claro. ***Remanescentes do véu universal no estipe*** na forma de uma volva sacada frágil de 18 mm de comprimento, de coloração cinza (OAC 725), imersa no substrato. ***Remanescentes do véu parcial*** ausentes.

***Basidiósporos*** 7,5–12 × 7–9 µm (Q'= 1,26), largamente elipsoides, parede lisa e fina, gutulados, apiculados, inamiloides, hialinos. ***Basídios*** 29–52 × 10–13 µm, clavados, parede lisa e fina, abundantemente preenchidos por gútulas muito pequenas, portando até 4 esterigmas de 3–9 µm de comprimento. ***Subhimênio*** do tipo celular, com hifas ± isodiamétricas, anguladas a globosas, de 11–22 × 12–21 µm, parede lisa e fina, gutuladas, hialinas. ***Trama da lamela*** discretamente divergente, com hifas cilíndricas medindo 3–30 µm de diâmetro, de parede lisa e fina, hialinas. ***Contexto do píleo*** hifas cilíndricas delgadas a infladas medindo 5–21 µm de diâmetro, de parede lisa e fina, formando uma rede frouxa de hifas, hialinas, sem fíbulas, presença de hifas oleíferas. ***Superfície do píleo*** uma cútis frouxa composta de hifas cilíndricas de 2–4 µm de diâmetro, de parede lisa e fina, pigmentadas de marrom claro, formando uma camada total de ± 80 µm, aparentemente não gelatinizada, sem fíbulas. ***Contexto do estipe*** composto de hifas cilíndricas delgadas a infladas, de 5–30 µm de diâmetro, de parede lisa e fina, organizadas paralelamente, hialinas, sem fíbulas. ***Superfície do estipe*** uma cútis de uma a duas camadas de hifas cilíndricas medindo de 4–15 µm de diâmetro, pigmentadas de castanho claro, sem fíbulas. ***Remanescentes do véu universal no estipe*** composto de hifas globosas a piriformes, abundantes, medindo 17–66 × 15–57 µm, de parede lisa e fina a levemente espessada (até 1 µm de espessura), sustentadas por hifas

cilíndricas ou com uma hifa globosa na base, hialinas, sem fíbulas. *Fíbulas* ausentes.

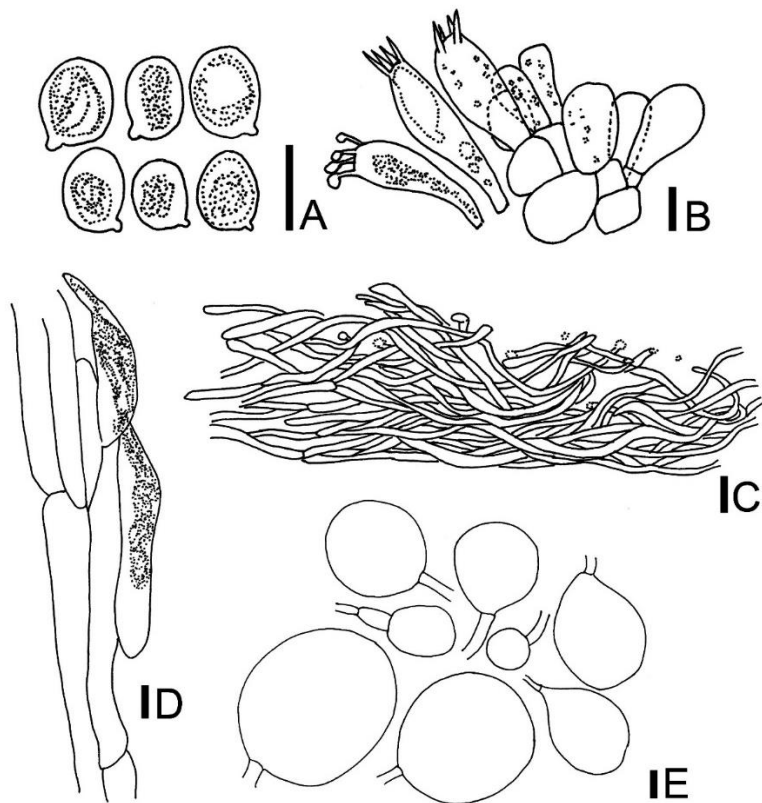
**Hábito e hábitat:** crescendo próximos em solo de Floresta Amazônica e em Mata Atlântica.

**Espécimes examinados:** BRASIL. MATO GROSSO: Alta Floresta, Reserva Particular do Patrimônio Natural Cristalino, Trilha do Cacau, 9°35'37"S, 55°55'30", elevação 250 metros, 15 Jan 2018, *Simon-Cardoso J 149*; 28 Dez 2016, *CJL 178*; BRASIL. RIO GRANDE DO SUL: Porto Alegre, Morro Santana, 15 Dez 2014, *Magnago AC 1117*; 12 Jan 2015, *Magnago AC 1130*; 13 Jan 2017, *Magnago AC 1348*.

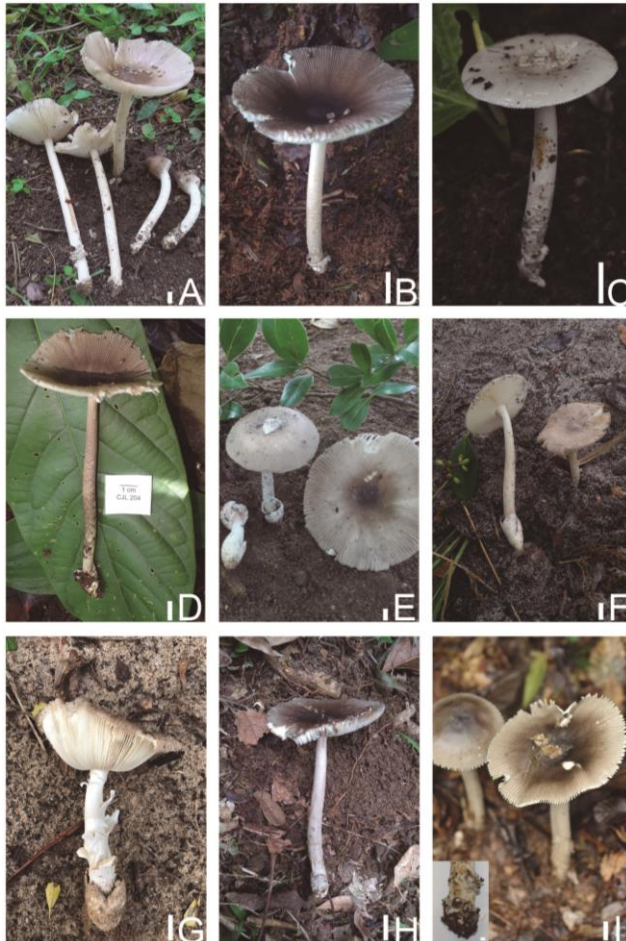
**Comentários:** *Amanita* sp. 6 se assemelha macro e microscopicamente com *Amanita* sp. 2 e *Amanita coacta* Bas.

O que diferencia *Amanita* sp. 6 das citadas acima é a inserção das lamelas, as quais são emarginadas em vez de grosseiramente livres como nas demais. Todavia, o restante da macroscopia é muito semelhante.

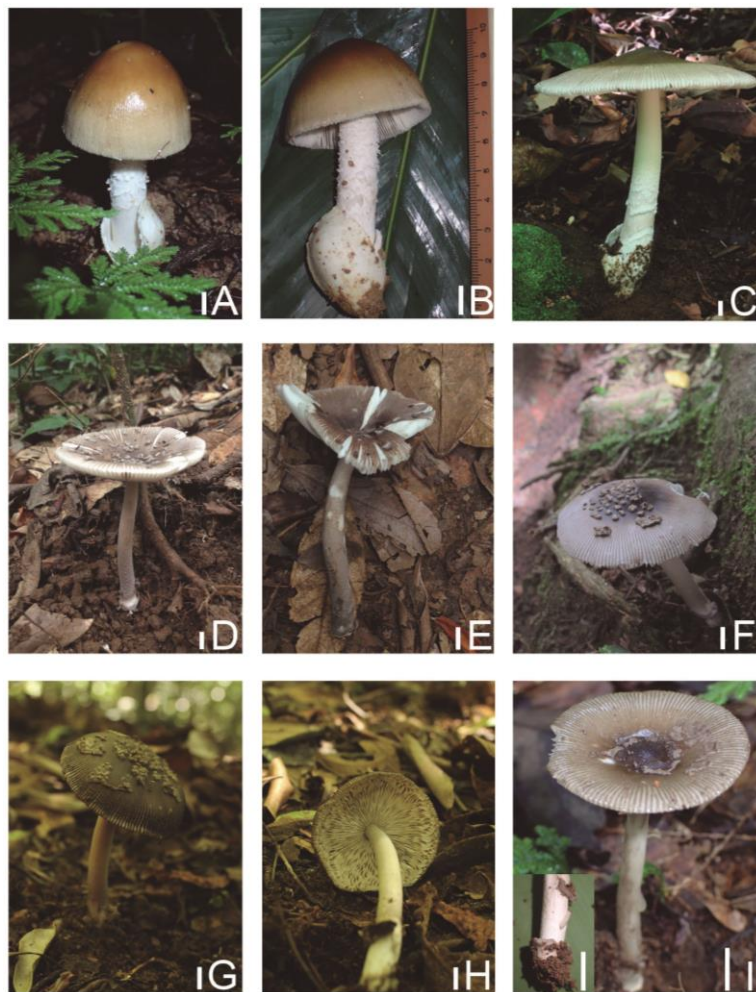
Quanto à microscopia, os caracteres também se sobrepõem a *Amanita coacta*, com exceção da superfície do píleo se apresentar como uma cútis de até 80 µm de espessura em *Amanita* sp. 6, enquanto que em *Amanita* sp. 2 e em *Amanita coacta* se apresenta na forma de uma ixocútis a ixotricoderme com mais de 200 µm de espessura. Outra diferença é o maior tamanho dos esterigmas em relação às outras. Contudo, deve-se atentar pois essas são diferenças sutis e/ou podem ser influenciadas por fatores externos como umidade e radiação solar, como no caso da superfície do píleo.



**Figura 9.** Microcaracterísticas de *Amanita* sp. 6. A: basidiósporos; B: basídios e subhimênio; C: superfície do píleo; D: superfície do estipe; E: remanescentes do véu universal no estipe. Barras: 10  $\mu$ m.



**Figura 10.** Basidiomas de espécies de *Amanita* seção *Vaginatae*. A, B e C: *Amanita coacta* (ACM 954, GS 067, ANMF 636); D: *Amanita crebresulcata* (CJL 204); E, F, G e H: *Amanita* sp. 1 mostrando as diferentes colorações do píleo e formas da volva e estipe (ACM 970, GS 065, GS 089, GS 066); I: *Amanita* sp. 2 com imagem da volva em detalhe (GS 026). Barras: 1 cm. Fotos A e E: Altielys Casale Magnago, B, F, H e I: Gisele Scheibler; C: Ariadne Nóbrega Marinho Furtado, D: Susanne Sourell, G: Maria Eduarda de Andrade Borges.



**Figura 11.** Basidiomas de espécies de *Amanita* seção *Vaginatae*. A e B: *Amanita* sp. 3 (ambas JS 267); C: *Amanita* sp. 4 (JMFLO 20); D e E: *Amanita* sp. 5 (ambas ANMF 594); F, G, H e I: *Amanita* sp. 6 (ACM 1130, ACM 1347, ACM 1347 e CJL 178). Barras: 1 cm. Fotos: A, B e I: Susanne Sourell, C: Maria Alice Neves, D e E: Ariadne Nóbrega Marinho Furtado, F, G e H: Alteliys Casale Magnago.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bas, C. (1969). Morphology and subdivision of *Amanita* and a monograph of its section *Lepidella*. *Persoonia-Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi*, 5(4), 285-573.
- Bas, C. (1978). Studies in *Amanita*—I. Some species from Amazonia. *Persoonia-Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi*, 10(1), 1-22.
- Benson, D. A., Karsch-Mizrachi, I., Lipman, D. J., Ostell, J., & Wheeler, D. L. (2005). GenBank. Nucleic acids research, 33(suppl\_1), D34-D38.
- Borovička, J., Kotrba, P., Gryndler, M., Mihaljevič, M., Řanda, Z., Rohovec, J., ... & Dunn, C. E. (2010). Bioaccumulation of silver in ectomycorrhizal and saprobic macrofungi from pristine and polluted areas. *Science of the Total Environment*, 408(13), 2733-2744.
- Capelari, M., & Maziero, R. (1988). Fungos macroscópicos do estado de Rondônia região dos Rios Jaru e Ji-Paraná. *Hoehnea*, 15, 28-36.
- Contu, M. (2003). A revised key to *Amanita* section *Vaginatae* (Fr.) Quél. in Europe. *Field Mycology*, 4(4), 128-136.
- Corner, E. J. H., & Bas, C. (1962). The genus *Amanita* in Singapore and Malaya. *Persoonia-Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi*, 2(3), 241-304.
- Cui, Y. Y., Cai, Q., Tang, L. P., Liu, J. W., & Yang, Z. L. (2018). The family Amanitaceae: molecular phylogeny, higher-rank taxonomy and the species in China. *Fungal Diversity*, 91(1), 5-230.
- Darriba, D.; Taboada, G.L.; Doallo, R.; Posada, D. (2012) jModelTest 2: more models, new heuristics and parallel computing. *Nat Methods* 9:772.
- Doyle, J. J. & Doyle, J. L. (1987). A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochem. Bull.*, 19, 11-15.
- Góes-Neto, A., Loguercio-Leite, C., & Guerrero, R. T. (2005). DNA extraction from frozen fieldcollected and dehydrated herbarium fungal basidiomata: performance of SDS and CTAB-based methods. *Biotemas*, 18(2), 19-32.
- Grandi, R. A. P., Guzmán, G., & Bononi, V. L. (1984). Adições às Agaricales (Basidiomycetes) do Parque Estadual das Fontes do Ipiranga, São Paulo, SP, Brasil. *Rickia* 11: 27–33.
- Guindon, S.; Dufayard, J.F.; Lefort, V.; Anisimova, M.; Hordijk, W.; Gascuel, O. (2010) New Algorithms and Methods to Estimate Maximum-Likelihood Phylogenies: Assessing the Performance of PhyML 3.0. *Systematic Biology*, 59(3):307-21.

- Guzmán, G. (1982). New species of fungi from the Yucatan Peninsula. *Mycotaxon*.
- Guzmán, G. (1986). Distribución de los hongos en la región del Caribe y zonas vecinas. *Caldasia*, 103-120.
- Jones, M. D., Twieg, B. D., Durall, D. M., & Berch, S. M. (2008). Location relative to a retention patch affects the ECM fungal community more than patch size in the first season after timber harvesting on Vancouver Island, British Columbia. *Forest ecology and management*, 255(3-4), 1342-1352.
- Katoh, K., & Standley, D. M. (2013). MAFFT multiple sequence alignment software version 7: improvements in performance and usability. *Molecular biology and evolution*, 30(4), 772-780.
- 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.
- Kim, C. S., Jo, J. W., Kwag, Y. N., Oh, J., Shrestha, B., Sung, G. H., & Han, S. K. (2013). Four newly recorded *Amanita* species in Korea: *Amanita* sect. *Amanita* and sect. *Vaginatae*. *Mycobiology*, 41(3), 131-138.
- Kirk, P. M., Cannon, P. F., Minter, D. W., & Stalpers, J. A. (2008). *Dictionary of the Fungi*. 10<sup>o</sup> Edition.
- Kramer, L. A. (2004). The online auction color chart. Online Auction Color Chart Company, Stanford.
- Kumar, S., Stecher, G., & Tamura, K. (2016). MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 7.0 for bigger datasets. *Molecular biology and evolution*, 33(7), 1870-1874.
- Liu, J. W., Cai, Q., Cui, Y. Y., & Yang, Z. L. (2017). *Amanita cingulata*, a new annulate species of *Amanita* sect. *Vaginatae* from subtropical China. *Phytotaxa*, 326(1), 41-53.
- Magnago, A. C., Furtado, A. N. M., Urrea-Valencia, S., Freitas, A. F., & Neves, M. A. (2015). New records of agaricoid fungi (Basidiomycota) from Paraíba, Brazil. *Revista Biotemas*, 28, 4.
- Menolli, N., Asai, T., & Capelari, M. (2009). *Amanita coacta* (Amanitaceae, Agaricales) with a key to *Amanita* species occurring in Brazil. *Mycotaxon*, 107(1), 419-430.

- Miller, M. A., Pfeiffer, W., & Schwartz, T. (2010). Creating the CIPRES Science Gateway for inference of large phylogenetic trees. In Gateway Computing Environments Workshop (GCE), 2010 (pp. 1-8). IEEE.
- Ortega, A. O., & Contu, M. (2003). Sobre algunas especies interesantes del género *Amanita* sección *Vaginatae* en Andalucía (España). *Revista Catalana de Micologia*, 71-77.
- Osmundson, T. W., Robert, V. A., Schoch, C. L., Baker, L. J., Smith, A., Robich, G., Mizzan, L. & Garbelotto, M. M. (2013). Filling gaps in biodiversity knowledge for macrofungi: contributions and assessment of an herbarium collection DNA barcode sequencing project. *PLoS one*, 8(4), e62419.
- Smith, M. E., Henkel, T. W., Uehling, J. K., Fremier, A. K., Clarke, H. D., & Vilgalys, R. (2013). The ectomycorrhizal fungal community in a Neotropical forest dominated by the endemic dipterocarp *Pakaraimaea dipterocarpacea*. *PLoS one*, 8(1), e55160.
- Tang, L. P., Cai, Q., Lee, S. S., Buyck, B., Zhang, P., & Yang, Z. L. (2015). Taxonomy and phylogenetic position of species of *Amanita* sect. *Vaginatae* sl from tropical Africa. *Mycological progress*, 14(6), 39.
- Thongbai, B., Hyde, K. D., Lumyong, S., & Raspé, O. (2018). High undescribed diversity of *Amanita* section *Vaginatae* in northern Thailand.
- Tulloss, R. E. (1994). Type studies in *Amanita* section *Vaginatae*. I. Some taxa described in this century (studies 1-23) with notes on description of spores and refractive hyphae in *Amanita*. *Mycotaxon (USA)*.
- Tulloss, RE, Yang, ZL, eds.. 2019. Welcome. in Tulloss RE, Yang ZL, eds. *Amanitaceae studies*. [ <http://www.amanitaceae.org?Welcome> ]. accessed January, 2019.
- Vargas, N., Bernal, A., Sarria, V., Franco-Molano, A., & Restrepo, S. (2011). Amatoxin and phallotoxin composition in species of the genus *Amanita* in Colombia: A taxonomic perspective. *Toxicon*, 58(6-7), 583-590.
- Vargas, N., Pardo-de La Hoz, C. J., Danies, G., Franco-Molano, A. E., Jiménez, P., Restrepo, S., & Grajales, A. (2017). Defining the phylogenetic position of *Amanita* species from Andean Colombia. *Mycologia*, 109(2), 261-276.
- Vilgalys, R.; Hester, M. (1990) Rapid Genetic Identification and Mapping of Enzymatically Amplified Ribosomal DNA from Several *Cryptococcus* Species. *Journal of bacteriology* 172(8): 4238-4246.



- Vizzini, A., Zotti, M., Traverso, M., Ercole, E., Moreau, P. A., Kibby, G., ... & Peintner, U. (2016). Variability, host range, delimitation and neotypification of *Amanita simulans* (*Amanita* section *Vaginatae*): collections associated with *Helianthemum* grasslands, and epitypification of *A. lividopallescens*. *Phytotaxa*, 280(1), 1-22.
- Wartchow, F. (2015). *Amanita tenacipulvis*, a new species from Amazonian campinarana. *Sydowia*, 67, 75-79.
- Wartchow, F., & Maia, L. C. (2007). The neotropical *Amanita crebresulcata* Bas: new citation from Northeast Brazil. *Hoehnea*, 34(2), 131-134.
- Wartchow, F., Tulloss, R. E., & Cavalcanti, M. A. Q. (2009). *Amanita lippiae*: a new species from the semi-arid caatinga region of Brazil. *Mycologia*, 101(6), 864-870.
- White, T. J., Bruns, T., Lee, S., & Taylor, J. W. (1990). San Diego. PCR protocols: a guide to methods and applications Academic Press Inc, 315-322.
- Yang, Z. L. (2004). Two new species of *Amanita* (Basidiomycota) from China. *Frontiers in Basidiomycete mycology*. Eching: IHW-Verlag und Verlagsbuchhandlung, 315-24.
- Zhang, L. F., Yang, J. B., & Yang, Z. L. (2004). Molecular phylogeny of eastern Asian species of *Amanita* (Agaricales, Basidiomycota): taxonomic and biogeographic implications.

**CAPÍTULO II** – Novas espécies e ocorrências de *Amanita* Pers. das seções *Amanita*, *Lepidella*, *Phalloideae* e *Validae* no Brasil.

## Novas espécies e ocorrências de *Amanita* Pers. das seções *Amanita*, *Lepidella*, *Phalloideae* e *Validae* no Brasil.

### Resumo

O gênero *Amanita* compreende mais de 500 espécies distribuídas em dois subgêneros e em sete seções (subgênero *Amanita* contendo as seções *Amanita*, *Caesareae* e *Vaginatae* e subgênero *Lepidella* contendo as seções *Amidella*, *Lepidella*, *Phalloideae* e *Validae*). Os estudos sobre o gênero em regiões brasileiras são escassos e não demonstram a real diversidade do grupo. O intuito deste trabalho é contribuir para o conhecimento da diversidade de *Amanita* ocorrentes no Brasil e entender melhor as relações filogenéticas interespecíficas. Com a combinação de análises morfológicas e filogenéticas da região ITS do DNA, apresentamos quatro novas espécies e quatro novos registros para matas nativas dos estados de Santa Catarina e Mato Grosso. O primeiro registro brasileiro de *Amanita phalloides* e uma recoleta de *Amanita rubescens* são apresentados para o Rio Grande do Sul, ambos coletados em florestas exóticas de *Pinus*. São apresentadas descrições morfológicas, fotografias macroscópicas, ilustrações microscópicas, chave de identificação das seções e das espécies encontradas e uma filogenia da região ITS. A continuação de estudos deste cunho é de suma importância para o conhecimento da diversidade fúngica do grupo em regiões neotropicais.

**Palavras-chave:** Amanitaceae. Sistemática. Morfologia. Filogenia. ITS. Diversidade.

### Introdução

*Amanita* Pers. compreende 593 nomes aceitos (Tulloss & Yang 2019) e é um gênero amplamente distribuído e conhecido por realizar associações ectomicorrízicas com integrantes das famílias Betulaceae, Dipterocarpaceae, Fabaceae, Myrtaceae, Pinaceae e Salicaceae (Thongbai et al. 2016, Bhatt et al. 2017). É um grupo considerado fácil de ser identificado por possuir hábito frequentemente amanitoide (raro hábito secotioide), lamelas de coloração pálida e inserção livre, presença de volva e ocasionalmente de escamas e anel, crescendo em solo. Microscopicamente, possui basidiósporos globosos a elipsoides e de parede lisa e fina (quando não secotioides), himênio com hifas divergentes, acrofisálides presentes (hifas infladas presentes principalmente no contexto do píleo e estipe), subhimênio do tipo celular

e superfície do píleo na forma de cútis ou ixotricodermal e geralmente gelatinizada.

Segundo Corner & Bas (1962), Bas (1969), Yang (1997) e Weiß et al. (1998), *Amanita* é morfologicamente e filogeneticamente dividida em dois subgêneros e em sete seções: *Amanita* subgênero *Amanita* (*Amanita* seção *Amanita*, *Amanita* seção *Caesareae* e *Amanita* seção *Vaginatae*) e *Amanita* subgênero *Lepidella* (*Amanita* seção *Amidella*, *Amanita* seção *Lepidella*, *Amanita* seção *Phalloideae* e *Amanita* seção *Validae*).

Há o registro de 26 espécies de *Amanita* citadas para o Brasil, pertencentes à *Amanita* seção *Amanita*, *Amanita* seção *Vaginatae*, *Amanita* seção *Lepidella* e *Amanita* seção *Validae* (Tabela 5). O gênero vem sendo recentemente estudado no Brasil principalmente por Wartchow (2016, 2017) e Wartchow et al. (2007, 2009, 2012, 2015), baseados em caracteres morfológicos. No entanto, a distribuição no país é esparsa e se deve principalmente à subamostragem e até mesmo à falta de amostragem em alguns estados e biomas.

**Tabela 5.** Espécies de *Amanita* ocorrentes no Brasil por seção. Referência utilizada segue a primeira citação da espécie para o estado.

ESPÉCIE	ESTADO	REFERÊNCIA
Subgênero <i>Amanita</i>		
Seção <i>Amanita</i>		
<i>Amanita aliena</i> Wartchow & Cortez	RS	Wartchow & Cortez 2016
<i>Amanita chrysoleuca</i> Pegler	PR	Meijer 2006
<i>Amanita lanivolva</i> Bas	AM	Bas 1978
<i>Amanita muscaria</i> (L.) Lam.	PR; RS; SC; SP	Meijer 2001; Homrich 1965; Giachini et al. 2000; Fosco-Mucci & Yokomizo 1985
<i>Amanita pantherina</i> (DC.) Krombh.	SC	Giachini et al. 2000
<i>Amanita petalinovolva</i> Wartchow [as ' <i>petalinivolva</i> ']	RS	Wartchow et al. 2012
<i>Amanita sulcatissima</i> Bas	AM	Bas 1978
<i>Amanita viscidolutea</i> Menolli, Capelari & Baseia	PB; RN	Wartchow et al. 2012; Menolli et al. 2009
<i>Amanita xerocybe</i> Bas	AM	Bas 1978

Seção *Vaginatae*

<i>Amanita coacta</i> Bas	AM; SP	Bas 1978; Grandi et al. 1984 (como <i>A. crebresulcata</i> Bas)
<i>Amanita craseoderma</i> Bas	AM; RO	Bas 1978; Capelari & Maziero 1988
<i>Amanita crebresulcata</i> Bas	AM; PB; PE; PR	Bas 1978; Magnago et al. 2015; Wartchow & Maia 2007; Meijer 2006
<i>Amanita lippiae</i> Wartchow & Tulloss	PB	Wartchow et al. 2009
<i>Amanita tenacipulvis</i> Wartchow	AM	Wartchow 2015

## Subgênero

*Lepidella*Seção *Lepidella*

<i>Amanita ameghinoi</i> (Speg.) Singer *	SP	Pegler 1997
<i>Amanita aureofloccosa</i> Bas **	RS	Wartchow et al. 2015
<i>Amanita dulciodora</i> C.C.Nascimento, Sá & Wartchow	BA	Nascimento et al. 2018
<i>Amanita grallipes</i> Bas & de Meijer *	PR; RS	Meijer 2006; Rick 1906 (como <i>A. spissa</i> var. <i>laeta</i> )
<i>Amanita lilloi</i> Singer *	PE	Wartchow et al. 2007
<i>Amanita psammolimbata</i> Wartchow & Sulzbacher	RN	Wartchow et al. 2015
<i>Amanita strobiliformis</i> (Paulet ex Vittad.) Bertill.	RS	Rick 1930
<i>Amanita viridissima</i> Wartchow	BA	Wartchow 2016

## Subgênero

*Lepidella*Seção *Validae*

<i>Amanita campinaranae</i> Bas	AM	Bas 1978
<i>Amanita excelsa</i> (Fr.) Bertill. como <i>A. spissa</i> (Fr.) P. Kumm.	RS	Rick 1906
<i>Amanita phaea</i> Bas	AM	Bas 1978
<i>Amanita rubescens</i> Pers.	RS	Sobestiansky 2005

\* Espécies designadas no gênero *Saproamanita* Redhead, Vizzini, Drehmel & Contu segundo Redhead et al. 2016. # Material necessita de revisão.

Neste estudo, são descritas quatro novas espécies (*Amanita* sp. 7, *Amanita* sp. 8, *Amanita* sp. 9 e *Amanita* sp. 10), um novo registro para o Brasil (*Amanita phalloides*), três novos registros para o estado de Santa Catarina (*Amanita campinaranae*, *Amanita lanivolvula*, *Amanita*

*viscidolutea*) e uma recoleta para o estado do Rio Grande do Sul (*Amanita rubescens*).

## Material e Métodos

Os materiais foram coletados em expedições a campo realizadas entre novembro de 2012 e janeiro de 2019 em regiões conservadas com predomínio de Mata Atlântica (no estado do Rio Grande do Sul, Santa Catarina e Espírito Santo) e de Floresta Amazônica (no estado do Mato Grosso).

Os materiais foram fotografados e descritos macromofologicamente ainda frescos, seguindo a *Online Auction Color Chart* (Kramer 2004). A microscopia óptica de luz foi realizada com régua micrometrada acoplada. Cortes a mão livre foram montados em lâminas com água, hidróxido de potássio a 3%, reagente de Melzer (verificação de reações de amiloidia) e corante Vermelho Congo (usado para destacar a delimitação das hifas). Foram medidas 20 unidades de cada estrutura dos basidiomas. O quociente comprimento/diâmetro indicado por “Q” nas descrições microscópicas foi calculado para melhor delimitação da forma dos basidiósporos, conforme Bas (1969). A nomenclatura das estruturas seguiu a estabelecida por Largent et al. (1977).

Para as análises filogenéticas, foi utilizado o protocolo de Doyle & Doyle (1987) modificado por Góes-Neto et al. (2005) de extração de DNA com CTAB. Através de Reações em Cadeia da Polimerase (PCR) foram amplificadas as regiões de ITS1 e ITS4 (White et al. 1990), com o seguinte ciclo: Desnaturação inicial a 95°C por 2 min, 5 ciclos de 95°C por 30 s, 60°C por 30 s e 72°C por 1 min, 25 ciclos de 95°C por 30 s, 55°C por 30 s e 72°C por 1 min e extensão final a 72°C por 10 min. O produto da PCR foi purificado com PEG 20% e enviado para sequenciamento com o mesmo par de primer na empresa Myleus Biotecnologia e no Centro de Pesquisa René Rachou – Fiocruz, ambas em Minas Gerais, Brasil. As análises morfológicas e filogenéticas (com exceção do sequenciamento) foram todas realizadas no Laboratório de Micologia e Laboratório de Biologia Molecular do Departamento de Botânica da Universidade Federal de Santa Catarina, Brasil.

As sequências geradas foram manualmente curadas no Geneious v.8.1 (Kearse et al. 2012), alinhadas no MAFFT (Katoh & Standley 2013) e editadas no MEGA v.7 (Kumar et al. 2016). Junto à elas foi montada

uma matriz utilizando seqüências disponíveis de ITS no banco de dados GenBank ([ncbi.nlm.nih.gov/genbank/](http://ncbi.nlm.nih.gov/genbank/), Benson et al. 2005) (Tabela 6). A reconstrução das filogenias foi feita com o modelo evolutivo estimado pelo jModelTest v2.1.6 (Darriba et al., 2012; Guindon et al. 2010) utilizando os métodos de Máxima Verossimilhança (ML) e Inferência Bayesiana (IB), disponíveis na plataforma CIPRES Science gateway (Miller et al., 2010, <http://www.phylo.org/>). Os filogramas foram visualizados no FigTree (<http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/>).

**Tabela 6.** Sequências utilizadas nas análises moleculares. Em negrito estão as coleções geradas neste trabalho; \* seqüências que serão depositadas no Genbank; - dados ausentes.

<b>Espécie</b>	<b>Voucher</b>	<b>ITS</b>	<b>Localidade</b>	<b>Referência</b>
<i>Amanita porphyria</i>	LEM960303	AB015677	Japão	Oda et al. 1999
<i>Amanita japonica</i>	LEM960167	AB015684	Japão	Oda et al. 1999
<i>Amanita abrupta</i>	LEM960299a	AB015685	Japão	Oda et al. 1999
<i>Amanita virgineoides</i>	LEM960205	AB015686	Japão	Oda et al. 1999
<i>Amanita muscaria</i> var. <i>regalis</i>	506(O)	AB080780	Japão	Oda et al. 2002
<i>Amanita concentrica</i>	FB-24901(CBM)	AB080783	Japão	Oda et al. 2002
<i>Amanita muscaria</i> var. <i>regalis</i>	LEM960337	AB081296	Japão	Oda et al. 2004
<i>Amanita muscaria</i> var. <i>regalis</i>	FB-30982(CBM)	AB096050	Japão	-
<i>Amanita cylindrispora</i>	RET 8-11-96-B	AY325839	-	-
<i>Amanita avellaneosquamosa</i>	HKAS 38300	AY436447	China	Zhang et al. 2004
<i>Amanita chepangiana</i>	HKAS 34218	AY436450	China	Zhang et al. 2004
<i>Amanita esculenta</i>	HKAS 34169	AY436451	China	Zhang et al. 2004
<i>Amanita excelsa</i>	HKAS 31510	AY436453	Alemanha	Zhang et al. 2004
<i>Amanita orientigemmata</i>	HKAS 38345	AY436465	China	Zhang et al. 2004
<i>Amanita sepiacea</i>	HKAS 38716	AY436473	China	Zhang et al. 2004
<i>Amanita solitaria</i>	HKAS 31459	AY436475	Alemanha	Zhang et al. 2004
<i>Amanita yuaniana</i>	HKAS 29516	AY436479	China	Zhang et al. 2004
<i>Pluteus romellii</i>	AFTOL-ID 625	AY854065	Estados Unidos	-
<i>Amanita clarisquamosa</i>	67702	FJ375331	China	-
<i>Amanita neoovoidea</i>	A10	FJ441040	China	-
<i>Amanita xylinvolve</i>	ANDES_F312 NVE56	FJ890024	Colômbia	Vargas et al. 2011
<i>Amanita rubescens</i>	ANDES_F415 NVE3	FJ890030	Colômbia	Vargas et al. 2011

<i>Amanita rubescens</i>	ANDES_F416 NVE160	FJ890031	Colômbia	Vargas et al. 2011
<i>Amanita flavorubescens</i>	F:PRL6062	GQ166902	Estados Unidos	-
<i>Amanita gemmata</i>	7045	GQ250399	Estados Unidos	-
<i>Amanita ocreata</i>	7002	GQ250404	Estados Unidos	-
<i>Amanita pantherina</i>	9013	GQ401354	Estados Unidos	-
<i>Amanita pachycolea</i>	SMI351	HQ650725	Canadá	Kranabetter et al. 2009
<i>Amanita regalis</i>	17157	JF907764	Estados Unidos	Osmundson et al. 2013
<i>Amanita rubrovolvata</i>	HKAS 56744	JN943181	China	-
<i>Amanita lesueurii</i>	PERTH 08351325	JX398315	Austrália	Davison et al. 2013
<i>Amanita hemibapha</i>	RET-342-8	JX844716	Índia	-
<i>Amanita jacksonii</i>	RET-393-6	JX844725	Estados Unidos	-
<i>Amanita phalloides</i>	HKAS:75773	JX998031	China	Cai et al. 2012
<i>Amanita craseoderma</i>	TH8907	KC155382	Guiana	Smith et al. 2013
<i>Amanita campinaranae</i>	TH8453	KC155383	Guiana	Smith et al. 2013
<i>Amanita pseudoporphyria</i>	HKAS56984	KC429050	China	Li & Cai 2014
<i>Amanita ceciliae</i>	KA12-0758	KF017929	Coréia do Sul	Kim et al. 2013
<i>Amanita sinensis</i>	KA12-1555	KF017946	Coréia do Sul	Kim et al. 2013
<i>Amanita vaginata</i>	KA12-1190	KF017949	Coréia do Sul	Kim et al. 2013
<i>Amanita spissa</i>	KA12-0884	KF245910	Coréia do Sul	Kim et al. 2013
<i>Amanita volvata</i>	KA12-1367	KF245923	Coréia do Sul	Kim et al. 2013
<i>Amanita phalloides</i>	RET 053-2	KF561975	Estados Unidos	-
<i>Amanita bisporigera</i>	RET377-9	KJ466374	Estados Unidos	Cai et al. 2014
<i>Amanita exitialis</i>	HKAS74673	KJ466375	China	Cai et al. 2014
<i>Amanita manginiana</i>	HKAS56933	KJ466378	China	Cai et al. 2014
<i>Amanita oberwinklerana</i>	HKAS77330	KJ466380	China	Cai et al. 2014
<i>Amanita pallidorosea</i>	HKAS77327	KJ466386	China	Cai et al. 2014
<i>Amanita subjunquillea</i>	HKAS74993	KJ466424	China	Cai et al. 2014
<i>Amanita virosa</i>	HMJAU23304	KJ466431	China	Cai et al. 2014
<i>Amanita novinupta</i>	NY 00066710	KJ535437	Estados Unidos	-
<i>Amanita fulva</i>	2741	KJ638270	Canadá	-
<i>Amanita longistriata</i>	LE 296419	KJ739810	Rússia	-
<i>Amanita rhacopus</i>	RET 505-6	KP224338	Canadá	-
<i>Amanita basiana</i>	RET 308-4	KP258986	Itália	-
<i>Amanita lippiae</i>	RET 418-2	KP258991	Brasil, Pernambuco	-



<i>Amanita frostiana</i>	RET 588-6 ANDES_F2117_NV	KP313583	Estados Unidos	-
<i>Amanita citrina</i>	E616	KT008018	Colômbia	-
<i>Amanita campinaranae</i>	AMV1442 NVE731_ANDES_F	KT724058	Colômbia	-
<i>Amanita muscaria</i>	2234 NVE780_ANDES_F	KU693329	Colômbia	-
<i>Amanita muscaria</i>	2290	KU693333	Colômbia	-
<i>Amanita orsonii</i>	RET 717-8	KX270327	Índia	-
<i>Amanita regalis</i>	PRM 860899	LT594941	Estados Unidos	-
<i>Amanita wadlukiorum</i>	PERTH 08403988	NR137116	Estados Unidos	-
<i>Amanita lesueurii</i>	PERTH 08351325	NR151649	Austrália	Davison et al. 2013
<i>Amanita wadulawitu</i>	PERTH 8615861	NR151650	Austrália	McGurk et al. 2016
<i>Amanita phalloides</i>	<b>LD 001</b>	*	<b>Brasil, Rio Grande do Sul</b>	
<i>Amanita rubescens</i>	<b>PSS.A</b>	*	<b>Brasil, Rio Grande do Sul</b>	
<i>Amanita viscidolutea</i>	<b>GS 035</b>	*	<b>Brasil, Santa Catarina</b>	
<i>Amanita viscidolutea</i>	<b>EC 150</b>	*	<b>Brasil, Santa Catarina</b>	
<i>Amanita viscidolutea</i>	<b>JS 262</b>	*	<b>Brasil, Santa Catarina</b>	
<i>Amanita viscidolutea</i>	<b>ACM 565</b>	*	<b>Brasil, Santa Catarina</b>	
<i>Amanita</i> sp. 7	<b>CJL 221</b>	*	<b>Brasil, Mato Grosso</b>	
<i>Amanita</i> sp. 7	<b>CJL 258</b>	*	<b>Brasil, Mato Grosso</b>	
<i>Amanita</i> sp. 8	<b>ACM 580</b>	*	<b>Brasil, Santa Catarina</b>	
<i>Amanita</i> sp. 8	<b>JS 150</b>	*	<b>Brasil, Mato Grosso</b>	
<i>Amanita</i> sp. 8	<b>CJL 263</b>	*	<b>Brasil, Mato Grosso</b>	
<i>Amanita</i> sp. 9	<b>CJL 290</b>	*	<b>Brasil, Mato Grosso</b>	

## Resultados e Discussão

Foram coletados 28 espécimes identificados em nove espécies ocorrentes na Mata Atlântica, Floresta Amazônica e em áreas com vegetação exótica de *Pinus* L.

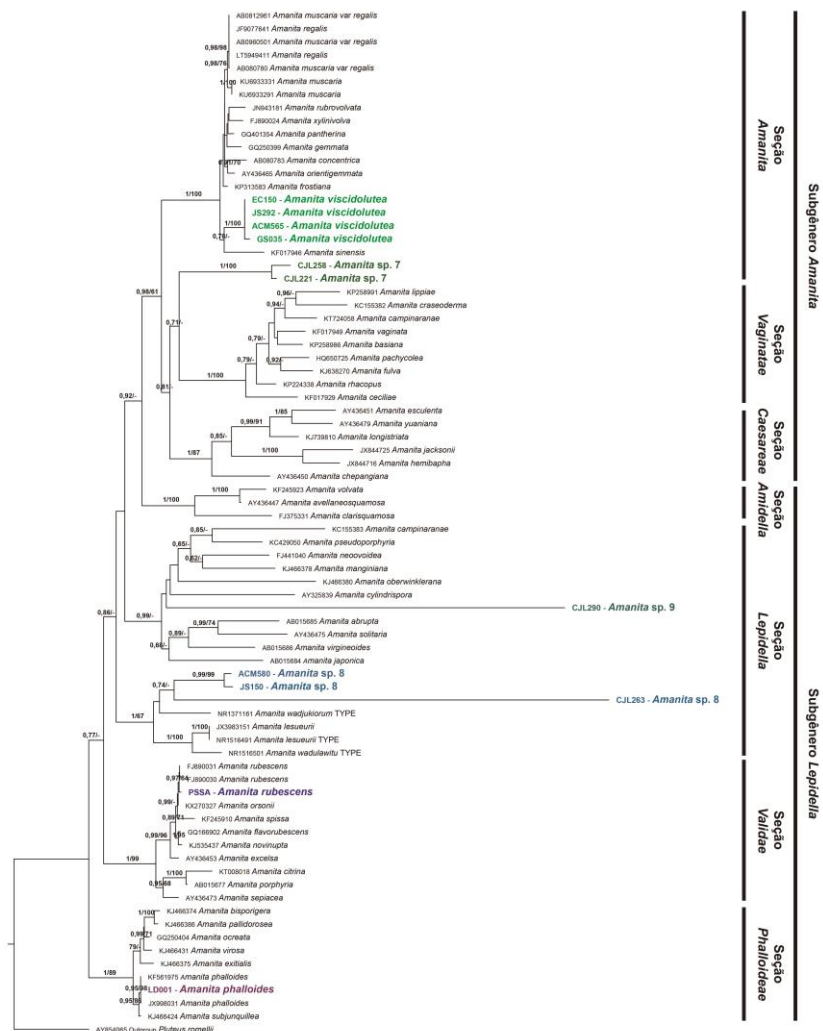
A matriz construída a partir da região ITS resultou em 78 sequências das quais 66 foram obtidas no GenBank e 12 geradas neste trabalho. O modelo evolutivo estimado pelo JModelTest foi o GTR+I+G. Na Figura 12 é apresentada a filogenia com topologia inferida pela

Máxima Verossimilhança mostrando valores de *bootstrap* e de Probabilidade Posterior fornecidos pela Inferência Bayesiana.

Não foi obtido sucesso na amplificação das sequências dos espécimes de *Amanita campinaranae*, *Amanita lanivolva* e *Amanita* sp. 10 e, portanto, tiveram sua identificação baseada apenas em caracteres morfológicos.

A filogenia corroborou com o agrupamento das espécies feitas pela morfologia, inclusive de espécimes de uma mesma espécie ocorrendo nos estados de Santa Catarina e Espírito Santo (no caso de *Amanita lanivolva*) e nos estados de Santa Catarina e Mato Grosso (no caso de *Amanita* sp. 8).

Pode-se confirmar a presença e ampliar a distribuição de novidades e de espécies já conhecidas para a ciência. Até o momento ainda não há o registro de exemplares de *Amanita* seção *Caesareae* (*Amanita* subgênero *Amanita*) e nem de *Amanita* seção *Amidella* (*Amanita* subgênero *Lepidella*) registrados no Brasil.



**Figura 12.** Filogenia de representantes *Amanita* e suas respectivas seções inferida a partir da região ITS com topologia de análise de Máxima Verossimilhança. Os valores de bootstrap acima de 50% são mostrados antes da barra e os valores de Probabilidade Posterior acima de 70% são mostrados depois da barra. Nomes em negrito e coloridos são de sequências oriundas deste trabalho.

**Chave de identificação das seções e espécies de *Amanita* ocorrentes no Brasil (com exceção de espécies da seção *Vaginatae*, abordadas no Capítulo I)**

1. Basidiósporos inamiloides, píleo com margem estriada ..... (Subgênero *Amanita*) **2**
- 1'. Basidiósporos amiloides, píleo com margem não estriada ..... (Subgênero *Lepidella*) **3**
2. Estipe cilíndrico sem bulbo, anel ausente, fíbulas ausentes ..... **Seção *Vaginatae***
- 2'. Estipe subcilíndrico a bulboso, anel geralmente presente, fíbulas presentes..... **Seção *Amanita* 5**
3. Margem do píleo apendiculada ..... **Seção *Lepidella* 7**
- 3'. Margem do píleo não apendiculada ..... **4**
4. Volva pouco desenvolvida, geralmente pulverulenta ou verrucosa, anel geralmente membranoso, pigmentos presentes na superfície do píleo ..... **Seção *Validae* 9**
- 4'. Anel e volva bem desenvolvidos, escamas geralmente ausentes ..... **Seção *Phalloideae* 10**
5. Volva sacada, abundantemente feltrada, de coloração marrom clara ..... ***Amanita lanivolva* Bas**
- 5'. Volva friável ou se desfazendo em pequenas verrugas ou cinturões acima do bulbo do estipe ..... **6**
6. Volva com uma margem amarelada acima do bulbo do estipe; píleo amarelo víscido ..... ***Amanita viscidolutea***
- 6'. Volva formando cinturões acima do bulbo do estipe, píleo cinza-chumbo..... ***Amanita* sp. 7**
7. Volva bem desenvolvida, geralmente limbadada; píleo com colorações pálidas ..... ***Amanita* sp. 9**
- 7'. Volva pouco desenvolvida, pulverulenta ou se desfazendo na base do estipe; píleo com colorações escuras ..... **8**
8. Estipe cinza a marrom, escamas cinzas geralmente presentes no centro do píleo; superfície do píleo na forma de uma cútis; Q' até 1,1 ..... ***Amanita* sp. 8**
- 8'. Margem do píleo com pequenas escâmulas brancas, estipe esbranquiçado, geralmente sem escamas no centro; píleo marrom escuro; superfície do píleo na forma de ixocútis; Q' maior que 1,1 ..... ***Amanita* sp. 10**

9. Volva friável, estipe com abruptamente bulboso, píleo com coloração marrom acinzentada, crescendo em vegetação nativa ..... *Amanita campinaranae* Bas
- 9'. Volva pulverulenta ou deixando discretas verrugas, estipe não abruptamente bulboso, píleo e contexto (quando exposto) com coloração avermelhada a rosada, crescendo em vegetação com *Pinus* ou *Castanea* ..... *Amanita rubescens* Pers.
10. Basidiomas com volva e anel membranosos e bem desenvolvidos, píleo com coloração olivácea, basidiomas crescendo em vegetação com *Pinus*..... *Amanita phalloides* (Vaill. ex Fr.) Link

### Taxonomia

*Amanita campinaranae* Bas, Persoonia 10(1): 4 (1978) (Figura 13 e Figura 22 A e B)

**Píleo** 45 mm de diâmetro, plano a levemente convexo, marrom acinzentado (OAC 723) com uma estreita faixa da borda esbranquiçada, liso, com escamas, margem inteira. **Lamelas** livres, brancas (OAC 909), muito próximas, estreitas, com lamélulas presentes. **Estipe** central, 60 × 8 mm, cilíndrico com uma base abruptamente bulbosa medindo 16 mm de diâmetro, bege (OAC 816). **Remanescentes do véu universal no píleo** presente na forma de escalas com o centro bem aderido e margens soltas e elevadas sob o píleo, de coloração cinza claro no centro (OAC 732) e cinza amarronzado mais escuro nas margens (OAC 724), distribuídas por todo o píleo. **Remanescentes do véu universal no estipe** na forma de uma volva bem aderida a porção bulbosa do estipe, formando um anel na divisão entre a porção cilíndrica e o bulbo, de coloração branca na porção basal e bege a castanho claro no ápice superior (OAC 816, OAC 809). **Remanescentes do véu parcial** presente na forma de um anel simples pendente, medindo 12 mm de comprimento, branco (OAC 909), membranoso.

**Basidiósporos** 6–9 × 5–6 μm (Q' = 1,38), elipsóides, parede lisa e finam hialinos, amiloides, gutulados. **Basídios** 21–34 × 8–11 μm, calvados, parede delisa e fina, portando 4 esterigmas de 2–4 μm de comprimento. **Subhimênio** do tipo celular, de até 37 μm de espessura, com 2–4 camadas de hifas mais ou menos diamétricas, medindo 8–13 × 7–11 μm, de parede lisa e fina, hialinas. **Trama da lamella** bilateral, levemente divergente,

com um estrato central compost de hifas filamentosas de 1–4  $\mu\text{m}$  de diâmetro e presença de hifas infladas de 5–25  $\mu\text{m}$  de diâmetro. **Contexto do píleo** compost de hifas infladas de (-18) 22–47  $\mu\text{m}$  de diâmetro, com formatos globosos a alongados, de parede lisa, hialinas. **Superfície do píleo** uma cútis de  $\pm 100 \mu\text{m}$  não gelatinizada, com hifas prostradas medindo 5–19  $\mu\text{m}$ , de parede lisa e fina. **Contexto do estipe** com acrofisálides organizadamente arrançadas, medindo 35–47  $\mu\text{m}$  de diâmetro, de parede lisa e fina, hialinas. **Remanescentes do véu universal no píleo** compost de hifas infladas, ovoides a subglobosas, de 35–91  $\times$  27–76  $\mu\text{m}$ , de parede lisa e fina, hialinas. **Remanescentes do véu universal no estipe** compost de hifas infladas, ovoides a subglobosas, 26–105  $\times$  18–89  $\mu\text{m}$ , de parede lisa e fina, hialinas. **Fíbulas** ausentes.

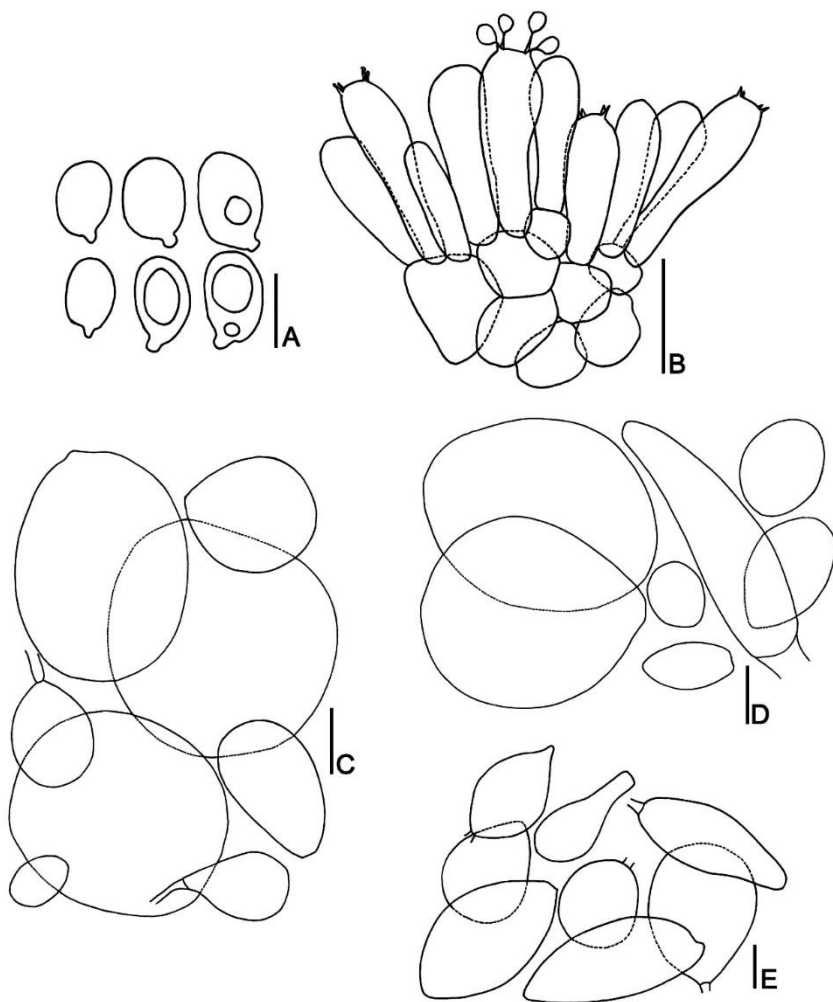
**Hábito e habitat:** Solitário crescendo próximo a vegetação de restinga, dominada por *Psidium* sp. (Myrtaceae) e *Ocotea* sp. (Lauraceae).

**Espécime examinado:** BRASIL, SANTA CATARINA. Florianópolis, Santo Amaro da Imperatriz, Hotel Plaza Caldas da Imperatriz, 21 Mar 2014, *Magnago*, A.C. 1012.

**Comentários:** *Amanita campinaranae* está inclusa no subgênero *Lepidella* na seção *Validae* pela amiloidia dos seus basidiósporos, por não possuir a margem do píleo apendiculada e por esta não ser sulcada. A espécie se caracteriza por apresentar o véu universal em forma de escamas achatadas cinzas na superfície do píleo e por possuir anel membranoso.

*Amanita campinaranae* difere de *Amanita rubescens* Pers. devido ao basidioma não se tornar vermelho quando exposto ao ar. Também difere de *Amanita phaea* Bas pelo formato do anel – membranoso em *A. campinaranae* e mais robusto em *A. phaea*, a qual também apresenta um estipe de superfície fibrilosa, o que não ocorre em *A. campinaranae*.

Esta espécie só havia sido registrada anteriormente por Bas (1978) na descrição original, encontrada em mata nativa de região campinarana no estado de Amazonas, sendo esse um novo registro da espécie para o Sul do Brasil.



**Figura 13.** Microcaracterísticas de *Amanita campinaranae*. A: basidiósporos; B: basídios e subhimênio; C: remanescentes do véu universal no estipe; D: remanescentes do véu universal no píleo; E: remanescentes do véu parcial. Barras: A, B e D: 10  $\mu\text{m}$ ; C e E: 20  $\mu\text{m}$ .

*Amanita lanivolva* Bas, Persoonia 10(1): 12 (1978) (Figura 14 e Figura 22 C e D)

**Píleo** 35–65 mm de diâmetro, convexo, marrom escuro no centro (OAC 734) e bege nas bordas (OAC 717, OAC 799), liso, margem estriada na porção de coloração bege. **Lamelas** livres, brancas (OAC 909) a bege (OAC 816), estreitas, próximas, margem inteira, lamélulas presentes. **Estipe** 60–90 × 5–8 mm, com base medindo até 23 mm de diâmetro, central, clavado com base levemente bulbosa, branco a bege (OAC 909, OAC 816), fistuloso. **Remanescentes do véu universal no píleo** ausentes ou presentes na forma de uma única escama de posição central ao píleo, medindo 10 mm de diâmetro, coloração bege acastanhada (OAC 717), de aspecto feltrado. **Remanescentes do véu universal no estipe** presente na forma de uma volva sacada e feltrada a tomentosa, medindo 20–38 mm de comprimento e 24 mm de largura, branca na base (OAC 909) e bege acastanhada em direção ao ápice superior (OAC 717, OAC 799). **Remanescentes do véu parcial** ausentes.

**Basidiósporos** (7–)8–10,5(–13) × (4,5–)6–7,5(–8)  $\mu\text{m}$  ( $Q' = 1,40$ ), elipsoides, parede lisa e fina, gutulados, com apículo evidente, hialinos, inamiloides, abundantes no material examinado. **Basídios** 31–42 × 10–15  $\mu\text{m}$ , clavados, parede lisa e fina, gutulados, portando até 4 esterigmas de 2–6  $\mu\text{m}$  de comprimento, hialinos. **Subhimênio** do tipo celular, com hifas de diferentes formatos, medindo 5–20 × 5–15  $\mu\text{m}$ , parede lisa e fina, hialinas. **Trama da lamela** divergente, com hifas cilíndricas delgadas a infladas (acrofisálides) medindo 3–24  $\mu\text{m}$  de diâmetro, de parede lisa e fina, hialinas, presença de hifas oleíferas e com fíbulas. **Contexto do píleo** composto por hifas cilíndricas a infladas, 3–26  $\mu\text{m}$  de diâmetro, de parede lisa e fina, hialinas, com fíbulas presentes. **Superfície do píleo** cútis frouxa e gelatinizada de  $\pm 100 \mu\text{m}$  de espessura, com presença de hifas cilíndricas delgadas de 2–6  $\mu\text{m}$  de diâmetro, de parede lisa e fina, hialinas, com fíbulas abundantes. **Contexto do estipe** hifas cilíndricas e acrofisálides medindo 4–33  $\mu\text{m}$  de diâmetro, organizadas paralelamente, parede lisa e fina, hialinas. **Superfície do estipe** uma cútis delgada de  $\pm 20\text{--}30 \mu\text{m}$  de diâmetro com alguns elementos se projetando para fora dela, composta por hifas cilíndricas medindo 2–6  $\mu\text{m}$  de diâmetro, de parede lisa e fina, levemente pigmentadas de castanho claro, presença de hifas oleíferas, com fíbulas. **Remanescentes do véu universal no píleo** quando presentes, composto por hifas globosas, piriformes a alongadas de 20–103 × 18–44  $\mu\text{m}$ , de parede lisa e levemente espessada (até 2  $\mu\text{m}$



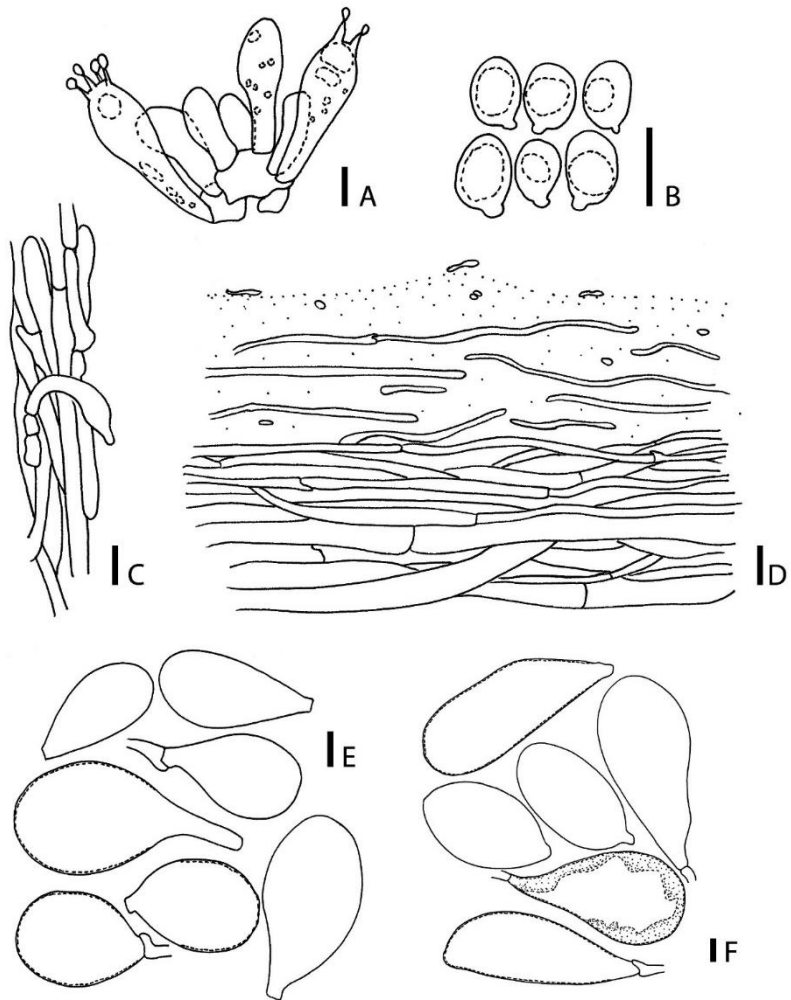
de espessura), com fíbulas na base, acopladas a hifas cilíndricas de parede lisa e fina, hialinas, presença de pigmento castanho oleoso em algumas hifas. **Remanescentes do véu universal no estipe** mesma morfologia das escamas, contudo se apresentando em menor tamanho, de  $28-75 \times 16-34$   $\mu\text{m}$ . **Fíbulas** presentes na trama da lamela, contexto, superfície do píleo, superfície do estipe e remanescentes do véu universal.

**Hábito e hábitat:** solitário, crescendo em solo de Floresta Ombrófila Densa.

**Espécime examinado:** BRASIL, ESPÍRITO SANTO: Santa Teresa, Reserva Biológica Rebio Augusto Ruschi (Trilha Cachoeira), 04 Dez 2012, *Magnago AC 506*. SANTA CATARINA. Florianópolis, Trilha do Morro da Lagoa da Conceição, 05 Jan 2019, *Ferst, L. 15*.

**Comentários:** *Amanita lanivolvea* pertence a *Amanita* subgênero *Amanita* seção *Amanita* por apresentar o píleo estriado, estipe com base bulbosa e basidiósporos inamiloides. A principal característica da espécie é o aspecto feltrado do remanescente do véu universal no estipe, que se apresenta na forma de uma volva tipicamente sacada. O remanescente do véu universal no píleo, quando presente, também pode possuir esse aspecto e geralmente está na forma de uma escama única no centro do píleo.

Essa espécie foi descrita por Bas (1978) para o estado do Amazonas e é reportada pela primeira vez para o Sul e Sudeste do Brasil, em Mata Atlântica.



**Figura 14.** Microcaracterísticas de *Amanita lanivolva*. A: basídios e subhímênio; B: basidiósporos; C: superfície do estipe; D: superfície do píleo; E: remanescentes do véu universal no estipe; F: remanescentes do véu universal no píleo. Barras: 10 µm.

*Amanita phalloides* (Vaill. ex Fr.) Link, Handb. Erk. Gew. 3: 272 (1833) (Figura 15 e Figura 22 E e F)

≡ *Agaricus phalloides* Vaill. ex Fr., Syst. mycol. (Lundae) 1: 13 (1821)

≡ *Agaricus phalloides* Bull., Hist. Champ. Fr. (Paris): tab. 2, 577 (1792)

≡ *Agaricus virosus* Vittad., Descr. fung. mang. Italia: 135 (1835)

**Pêlo** 80–84 mm de diâmetro, convexo a plano, bege oliva em direção a margem (OAC 809) e marrom esverdeado oliva escuro no centro (OAC 799), basidiomas jovens com pêlo de coloração mais clara, bege oliva (OAC 809), fibrilas depressas, margem reta, inteira. **Lamelas** livres a adnexas (sublivres), até 6 mm de altura, coloração creme (OAC 7), margem inteira, lamélulas presentes em diferentes comprimentos. **Estipe** 55–92 mm de diâmetro, 8–13 mm de diâmetro no topo, 25–32 mm de diâmetro na base bulbosa, central, cilíndrico, abruptamente bulboso, superfície fibrilosa em direção ao ápice, ápice marrom oliva (OAC 843), base branca (OAC 909), fistuloso. **Contexto do pêlo** 5mm de espessura, branco (OAC 909). **Contexto do estipe** branco (OAC 909). **Remanescentes do véu universal no pêlo** ausentes no material analisado. **Remanescentes do véu universal no estipe** na forma de uma volva limbada, aderida ao estipe em sua base, de coloração branca (OAC 909) no exterior e esverdeada olivácea na porção interna. **Remanescentes do véu parcial** na forma de um anel membranoso, verde oliváceo (OAC 809).

**Basidiósporos** (6,5–)7–9 × 6,5–8 μm (Q' = 1,13), elipsoides, alguns arredondados a piriformes, parede lisa e fina, apiculados, a maioria sem gúttulas, hialinos, amiloides. **Basídios** 29–47 × 7–10 μm, levemente clavados a quase colunares, abundantemente gutulados, parede lisa e fina, 4 esterigmas, alguns quase bifurcados na base, hialinos. **Subhimênio** celular, com 3 a 4 camadas de hifas ± isodiamétricas, (7–)10–15(–20) × (7–) 8–15 μm, hialinas. **Trama da lamela** divergente, hifas de parede lisa e fina, divergindo para o estrato central, cilíndricas, com presença de acrofisálides, hifas do estrato central com 3–27 μm de diâmetro, hifas do estrato lateral medindo 10–34 μm, hialinas, sem fíbulas. **Contexto do pêlo** hifas cilíndricas, de 4–30 μm de diâmetro, de parede lisa e fina, formando uma rede de hifas entrelaçadas, sem fíbulas. **Superfície do pêlo** uma ixocútis, gelatinizada, com hifas cilíndricas finas de 2–8 μm de diâmetro, entrelaçadas paralelamente, formando uma cútis sutil, de

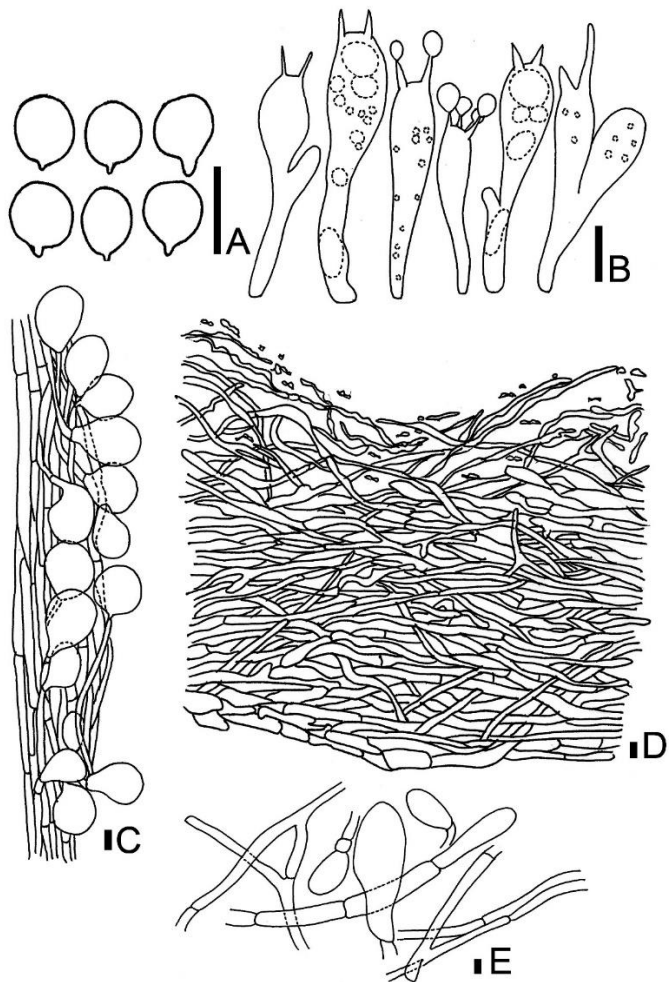
parede lisa e fina, podendo se bifurcar, de camada total de  $\pm 280 \mu\text{m}$  de espessura total. **Contexto do estipe** hifas cilíndricas de 4–28  $\mu\text{m}$  de diâmetro, parede lisa e fina, hialinas justapostas paralelamente, sem fíbulas. **Superfície do estipe** envolta por hifas globosas a piriformes (talvez remanescentes do anel) de parede lisa a levemente espessada, de 15–40  $\times$  12–31  $\mu\text{m}$ , já na porção mais basal do estipe há apenas hifas cilíndricas semelhantes ao contexto do estipe. **Remanescentes do véu universal no estipe** composta de hifas cilíndricas, de 3–9  $\mu\text{m}$  de diâmetro, de parede lisa e fina, entrelaçadas, com bifurcações, hialinas, sem fíbulas. **Remanescentes do véu parcial** composto por hifas globosas a elipsoides, de 19–66  $\times$  8–47  $\mu\text{m}$ , de parede lisa e levemente espessada (até 1  $\mu\text{m}$  de espessura), sustentadas por hifas cilíndricas, hialinas. **Fíbulas** ausentes. **Hábito e hábitat:** Crescendo próximos em solo com gramíneas em área de *Pinus*.

**Espécimes examinados:** BRASIL. RIO GRANDE DO SUL: Porto Alegre, Bairro Ponta Grossa, Sítio Marcus Arzivenço, 30°10'27.23"S e 51°10'57.99"O, 31 Mai 2015, *Donadel L 001*; Porto Alegre, Bairro Ponta Grossa, Sítio Marcus Arzivenço, 30°10'27.23"S e 51°10'57.99"O, 06 de Jun de 2015, *Donadel L 002*; Porto Alegre, Bairro Ponta Grossa, Sítio Marcus Arzivenço, 30°10'27.23"S e 51°10'57.99"O, 17 Jun 2015, *Donadel L 003*, *Donadel L 004*.

**Comentários:** *Amanita phalloides* é um dos mais famosos cogumelos do mundo, conhecido por ser fatalmente venenoso quando consumido (Pringle & Vellinga 2006). É amplamente registrado no Hemisfério Norte do globo, ocorrendo em florestas temperadas assim como *Amanita muscaria*.

Este é o primeiro registro da espécie para o Brasil, com ocorrência em áreas de vegetação exótica introduzida de *Pinus* L. Apesar de ser facilmente reconhecida por micólogos devido às características como píleo esverdeado oliváceo, volva limbada branca e anel membranoso, pode ser erroneamente identificada e consumida por leigos no assunto com espécimes comestíveis de *Agaricus* L.

Visto que o consumo de cogumelos nativos ou ocorrentes em áreas não urbanizadas têm crescido no país, é de suma importância que dados como este sejam expostos para a população, evitando que casos de intoxicação ou envenenamento fatais ocorram.



**Figura 15.** Microcaracterísticas de *Amanita phalloides*. A: basidiósporos; B: basídios; C: superfície do estipe; D: superfície do píleo; E: remanescentes do véu universal no estipe. Barras: 10  $\mu$ m.

***Amanita rubescens* Pers.**, Tent. disp. meth. fung. (Lipsiae): 71 (1797) (Figura 16 e Figura 22 G)

≡ *Agaricus magnificus* Fr., Monogr. Hymenomyc. Suec. (Upsaliae) 1: 13 (1857)

≡ *Agaricus rubescens* (Pers.) Fr., Syst. mycol. (Lundae) 1: 18 (1821)

≡ *Agaricus verrucosus* Bull., Herb. Fr. (Paris) 7: tab. 316 (1787)

≡ *Amanita annulosulphurea* (Gillet) Seyot, Les Amanites et la tribu des Amanitées: 51 (1930)

≡ *Amanita magnifica* (Fr.) Gillet, Hyménomycètes (Alençon): 23 (1874) [1878]

**Píleo** 29–114 mm de diâmetro, convexo, margem reta a decurvada, cor salmão alaranjado [6(4B)], superfície seca a víscida, textura escamosa, margem inteira. **Lamelas** livres, amplas a alargadas, 6–10 mm de altura, próximas, margem inteira, lamélulas em diferentes comprimentos, secas, cor creme [5(2A)]. **Estipe** central, 40–160 mm × 13–22 mm, bulboso a clavado, rosado [6(3B)], fibroso, contexto branco [1(1A)], textura fibrosa, firme, interior sólido. **Contexto do píleo** até 10 mm de espessura, branco [1(1A)], suave a cotonoso, sem mudança de coloração. **Remanescentes do véu universal no píleo** na forma de escamas marrom acinzentadas a creme [5(2A)] ou podendo estar ausentes. **Remanescentes do véu universal no estipe** na forma de uma fina camada flocular, deixando apenas vestígios levemente marrom avermelhados na porção mais bulbosa do estipe. **Remanescentes do véu parcial** na forma de um anel creme [5(2A)], membranoso, 12 – 25 mm de altura, superior, persistente, pendente (formato de saia), único.

**Basidiósporos** 7–10 × 5,5–7,5 μm (Q' = 1,37), elipsoides, parede lisa e fina, a maioria com uma gútula bem evidente, apícula bem evidente, amiloides, não metacromáticos, hialinos, abundantes no material analisado. **Basídios** 29–46 × 9–11 μm, clavados, parede lisa e fina, 4 esterigmas, poucas e pequenas gútulas (quando) presentes, hialinos. **Subhimênio** do tipo celular, composto de hifas ± isodiamétricas medindo 10–25 × 12–18 μm, com camada total de 3 a 5 hifas, hialinas. **Trama da lamela** divergente, hifas cilíndricas medindo 2–6 μm de diâmetro, parede lisa e fina, hialinas, sem fibulas. **Contexto do píleo** composto por hifas de diferentes formatos, sendo a maioria aproximadamente cilíndricas a quase globosas, medindo 2–18 μm de diâmetro, de parede lisa e fina, dispostas desorganizadamente formando uma rede frouxa de hifas desorganizadas,

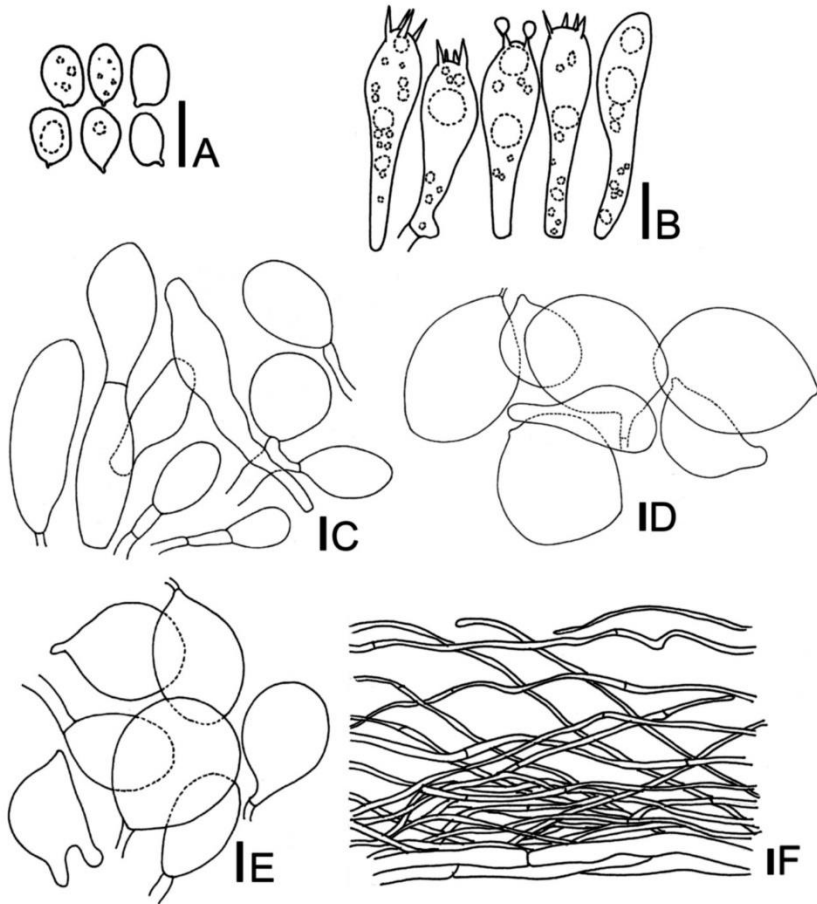
hialinas, sem fibulas. **Superfície do píleo** composta por uma espessa cútis frouxa de hifas cilíndricas finas imersas em uma matriz gelatinizada, com hifas medindo 2–5  $\mu\text{m}$  de diâmetro, de parede lisa e fina, sendo várias com aspecto contorcido, totalizando uma camada de  $\pm 100 \mu\text{m}$  de espessura, sem fibulas. **Contexto estipe** composto por hifas cilíndricas de 5–19  $\mu\text{m}$  de diâmetro, de parede lisa e fina, justapostas paralelamente umas às outras, hialinas, sem fibulas. **Superfície do estipe** formada por uma cútis de hifas de 5–15(–22)  $\mu\text{m}$  de diâmetro, cilíndricas, de parede lisa e fina, algumas com sutis incrustações, a grande maioria hialinas, presença de hifas com conteúdo amarelado a esverdeado. **Remanescentes do véu universal no píleo** composto por hifas globosas a piriformes, 21–65  $\times$  20–55  $\mu\text{m}$ , de parede lisa e levemente espessada, hialinas. **Remanescentes do véu universal no estipe** de mesmo aspecto dos remanescentes do véu do píleo, porém com predominância de hifas mais alongadas, 20–69  $\times$  10–35  $\mu\text{m}$ , de parede lisa e levemente espessada, hialinas. **Remanescentes do véu parcial** camada mais externa do anel composta de hifas globosas a alongadas de 21–77  $\times$  8–18  $\mu\text{m}$ , de parede lisa e fina, semelhante às escamas e a volva, estando ligadas a hifas  $\pm$  cilíndricas. **Fibulas** ausentes.

**Hábito e hábitat:** Crescendo próximos em solo com presença de *Pinus* (Pinaceae).

**Espécimes examinados:** BRASIL. RIO GRANDE DO SUL: São Francisco de Paula, Floresta Nacional de São Francisco de Paula, 18 Jun 2014, *Magnago*, AC 1103 (ICN 187955), 05 Set 2014, *Magnago*, AC 1079 (ICN 187956), 14 Nov 2015, *Scheibler*, G 002 (ICN 187954); 16 Mai 2016, *Santos PS. A.*

**Comentários:** *Amanita rubescens* é conhecida por ocorrer em Florestas Temperadas do Hemisfério Norte ou associada a plantações introduzidas de *Pinus* L. no Brasil (Sobestiansky 2005).

*Amanita rubescens* pertence a *Amanita* subgênero *Lepidella* seção *Validae* pela volva pouco desenvolvida (muitas vezes pulverulenta), pela superfície do píleo geralmente pigmentada e pelos basidisóporos amiloides. Essa espécie é facilmente caracterizada pela coloração avermelmhada da porção externa do basidioma e seu contexto interno quando exposto.



**Figura 16.** Microcaracterísticas de *Amanita rubescens*. A: basidiósporos; B: basídios; C: remanescentes do véu parcial; D: remanescentes do véu universal no píleo; E: remanescentes do véu universal no estipe; F: superfície do píleo. Barras: 10  $\mu$ m.



*Amanita viscidolutea* Menolli, Capelari & Baseia, Mycologia 101(3): 396 (2009) (Figura 17 e Figura 22 H e I)

**Pileo** 26–58 mm de diâmetro, convexo a plano, com uma leve depressão no centro, amarelo na porção mediana (OAC 003, OAC 813, OAC 854, OAC 855) a amarelo gema (OAC 811) a bege (OAC 900) em direção a margem, centro amarelo-alaranjado (OAC 715, OAC 811) a marrom (OAC 748), superfície viscosa a seca, margem reta, estriada. **Lamelas** livres, esbranquiçadas (OAC 816, OAC 909), próximas, margem inteira, lamélulas presentes. **Estipe** 42–77 mm, 4–7 mm de diâmetro no ápice e 6–8 mm de diâmetro na base, cilíndrico, central, mais amplo em direção a base, liso, esbranquiçado (OAC 909) a bege amarelado (OAC 814), bulbo 11–20 mm, possuindo um remanescente de *limbus internus* circundando a base do estipe. **Contexto do pileo** firme a macio, branco (OAC 909), reagindo na coloração creme após exposto (OAC 816). **Contexto do estipe** firme a macio, branco (OAC 909), se tornando de coloração creme após exposto (OAC 816). **Remanescentes do véu universal no pileo** na forma de escamas esbranquiçadas (OAC 909) a beges ou acinzentadas (OAC 802, OAC 816) concentradas no centro do pileo. **Remanescentes do véu universal no estipe** na forma de uma volva friável, branca (OAC 909) com as bordas do ápice amarelado (OAC 814, OAC 858), com a porção do bulbo nua. **Remanescentes do véu parcial** ausente.

**Basidiósporos** (7–)9 –11(–12) × (5–)6–7  $\mu\text{m}$  ( $Q' = 1,58$ ), amplamente elipsoides, de parede lisa e fina, gutulados, hialinos, inamiloides. **Basídios** 43–55 × 10–12  $\mu\text{m}$ , calvados, de parede lisa e fina, portando até 4 esterigmas de 2–4  $\mu\text{m}$  de comprimento. **Hifas da borda da lamela** 18–26 × 12–18  $\mu\text{m}$ , amplamente clavadas, de parede lisa, hialinas, inamiloides. **Subhimênio** do tipo celular, com até 39  $\mu\text{m}$  de espessura, com 2–4 camadas de hifas  $\pm$  isodiamétricas de 9–14 × 7–12  $\mu\text{m}$ . **Trama da lamela** bilateral, levemente divergente, com um um fino estrato central de hifas filamentosas de 3–5  $\mu\text{m}$  de diâmetro e presença de hifas infladas medindo de 6–10  $\mu\text{m}$  de diâmetro. **Contexto do pileo** composto de hifas infladas de 19–35  $\mu\text{m}$  de diâmetro, globosas a alongadas. **Superfície interna do pileo** uma cutis de  $\pm 167$   $\mu\text{m}$  de espessura, com hifas de 3–12  $\mu\text{m}$  de diâmetro, hialinas. **Superfície externa do pileo** ixotricodermal,  $\pm 137$   $\mu\text{m}$  de espessura, composta por hifas filamentosas de 3–4  $\mu\text{m}$  de diâmetro, emergindo em uma densa camada gelatinizada. **Contexto do estipe** composto por acrofisáides de 35–47  $\mu\text{m}$  de diâmetro, de parede

lisa e fina. **Remanescentes do véu universal no píleo** composto de hifas infladas ovoides a subglobosas de  $41\text{--}55 \times 29\text{--}47 \mu\text{m}$ , de parede lisa e fina, hialinas. **Remanescentes do véu universal no estipe** composto de hifas infladas ovoides a subglobosas de  $32\text{--}58 \times 29\text{--}50 \mu\text{m}$ , de parede lisa e fina, hialinas. **Fíbulas** ausentes.

**Hábito e hábitat** Solitário ou crescendo próximos, em solo arenoso, em vegetação de restinga, em área dominada por *Psidium* sp. (Myrtaceae) e *Ocotea* sp. (Lauraceae).

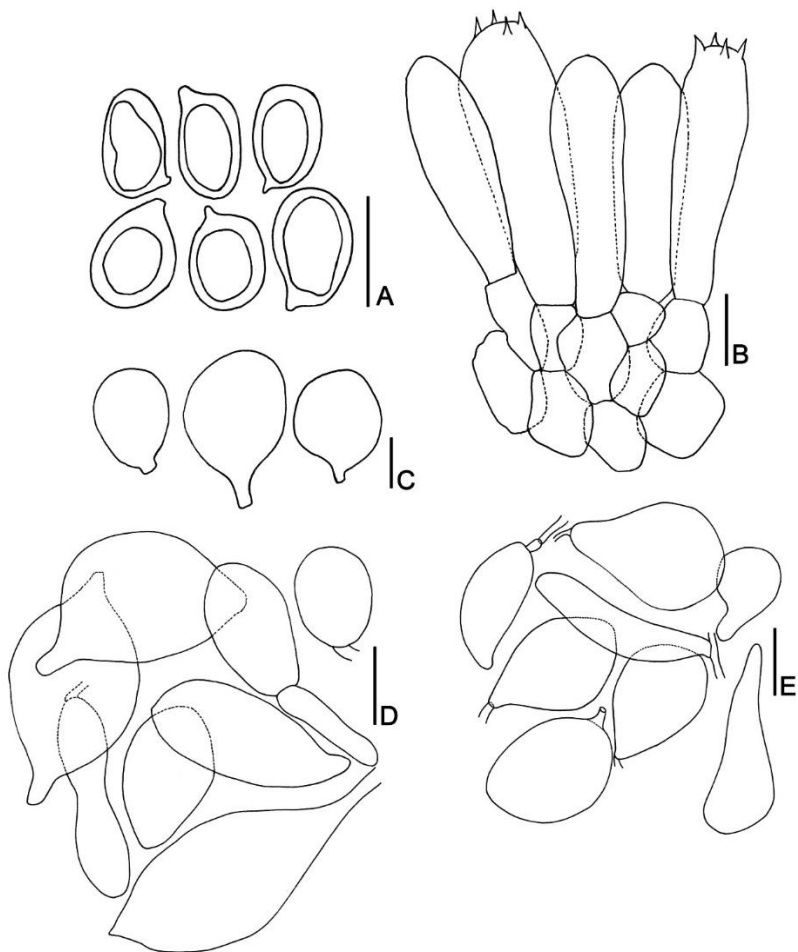
**Espécimes examinados:** BRASIL. SANTA CATARINA: Florianópolis, Parque Municipal das Dunas da Lagoa da Conceição, 19 Mar 2013, *Magnago AC 565*; Florianópolis, Parque Municipal da Lagoa do Peri, início da Trilha da Preguiça, 19 Mar 2014, *Magnago AC 966*, *Magnago AC 967*; Florianópolis, 04 Abr 2017, Lagoa do Peri, Trilha Guarani, *Oliveira CAT 178*, *Oliveira CAT 179*; Florianópolis, Parque Municipal das Dunas da Lagoa da Conceição, 08 Abr 2017, *Copini E 150*; Florianópolis, Parque Municipal da Lagoa do Peri, 10 Jun 2017, *Scheibler G 034*, *Scheibler G 035*; Florianópolis, Morro das Aranhas, 01 Fev 2018, *Cardoso-Simon J 292*; Florianópolis, Parque Municipal da Lagoa do Peri, 27 Jul 2018, *Scheibler G 097*.

**Material adicional examinado:** BRASIL. RIO GRANDE DO NORTE: Natal, Parque Estadual Dunas do Natal, *Baseia I G, s.n.*, 06 Jun 2016, *UFRN-Fungos 958* – Holótipo.

**Comentários:** *Amanita viscidolutea* Menolli, Capelari & Baseia pertence a *Amanita* subgênero *Amanita* seção *Amanita* pela estriação da margem do píleo, estipe com base bulbosa e basidiósporos inamiloides (Menolli et al. 2009).

Essa espécie difere de *Amanita petalinovolvea* Wartchow por ter a margem do píleo mais estriada, pela camada gelatinizada do píleo mais densa e principalmente pela forma diferente dos remanescentes do véu universal no estipe, sendo friável em *A. viscidolutea* e mais robusta em *A. petalinovolvea* (Wartchow et al. 2012).

Os registros existentes de *A. viscidolutea* são para a região nordeste do Brasil, no estado do Rio Grande do Norte (Menolli et al. 2009) e na Paraíba (Wartchow et al. 2012) em remanescentes de Mata Atlântica. Esta é uma nova ocorrência da espécie para o Sul do país.



**Figura 17.** Microcaracterísticas de *Amanita viscidolutea*. A: basidiósporos; B: basídios e subhimênio; C: hiflas da borda das lamelas; D: remanescentes do véu universal no píleo; E: remanescentes do véu universal no estipe. Barras: 10  $\mu$ m.

***Amanita* sp. 7** (Figura 18 e Figura 23 A, B, C e D)

**Péilo** 45–65 mm de diâmetro, basidioma imaturo, portanto péilo fortemente convexo, margem decurvada (pois imaturo) a reta, coloração cinza chumbo (OAC 903) a cinza claro a levemente amarronzado (OAC 690, OAC 731, OAC 906), uniforme por todo o péilo, superfície lisa, margem inteira porém de difícil visualização pois material imaturo e repleto de remanescentes na borda do péilo. **Lamelas** livres, beges a levemente rosadas (OAC 795), próximas, margem inteira, lamélulas presentes. **Estipe** central, 75–80 mm de comprimento, 15–17 mm de diâmetro no centro, 24–28 mm de diâmetro na base, clavado, base bulbosa, branco (OAC 909), grosseiramente fibriloso, com discretas esquâmulas de mesma cor do estipe, firme, textura macia. **Remanescentes do véu universal no péilo** abundantes por toda a superfície do péilo, achatadas a fortemente piramidais, bem aderidas na base, sendo possível ver cordões hifais se aderindo ao péilo, porção mais basal de coloração cinza claro (OAC 906) e porção mediana a apical de coloração branca (OAC 909), de até 5 mm de altura, formando inclusive cordões de remanescentes caindo e se desprendendo do péilo. **Remanescentes do véu universal no estipe** na forma de uma volva friável, formando anéis discretos se desprendendo do estipe e ficando mais espessos em direção a base, sendo facilmente distinguidos até 3 anéis e posteriormente formando uma volva bem aderida ao estipe, de coloração branca (OAC 909). **Remanescentes do véu parcial** na forma de um anel pendente, membranoso e frágil, se desfazendo facilmente, branco (OAC 909) em volta do estipe e com abundantes remanescentes ainda presentes na borda do péilo, de aspecto cotonoso e macio.

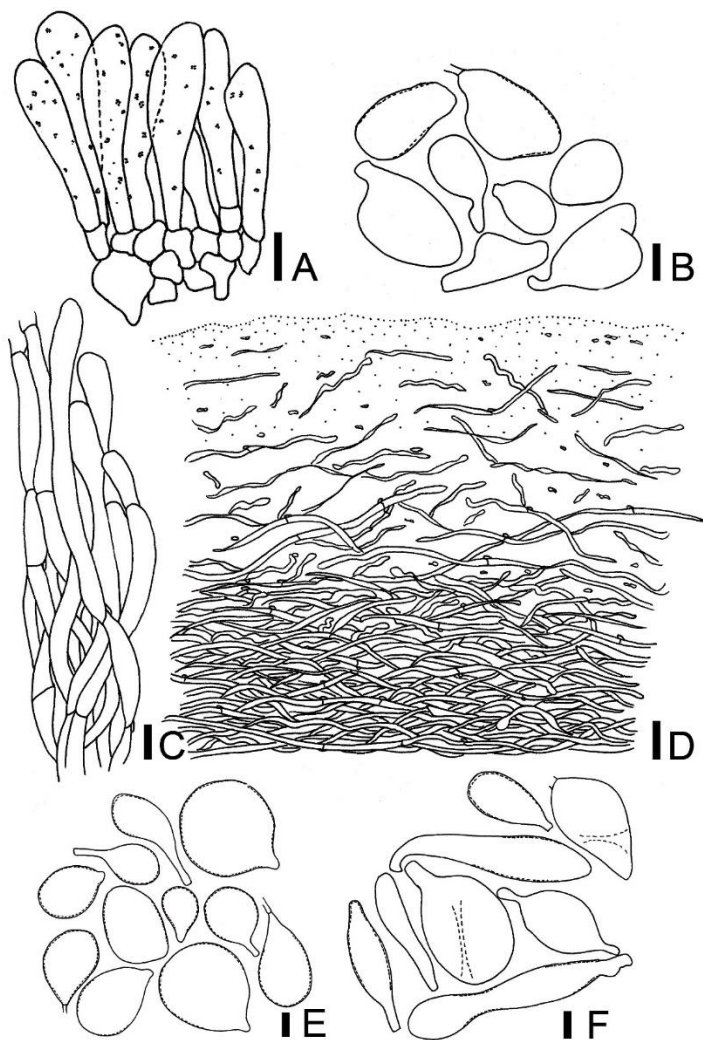
**Basidiósporos** poucos basidiósporos medidos devido a imaturidade dos dois basidiomas analisados, os basidióporos analisados ficaram na média de  $5 \times 3,5 \mu\text{m}$  ( $Q'=1,42$ ), elipsoides, de parede lisa e fina, gutulados, hialinos. **Basídios** apenas basidiólos medidos (ou basídios ainda sem esterigmas formados devido a imaturidade dos basidiomas analisados), medindo  $31\text{--}50 \times 8\text{--}12 \mu\text{m}$ , clavados, de parede lisa e fina, gutulados, hialinos, com fíbulas na base. **Subhimênio** do tipo celular, com uma camada de até 4 hifas  $\pm$  isodiamétricas a quase cuboides, medindo  $5\text{--}14 \times 5\text{--}10 \mu\text{m}$ , de parede lisa e fina, hialinas. **Trama da lamela** levemente divergente, quase entrelaçada, com hifas cilíndricas a quase elipsoides, medindo  $2\text{--}11 \mu\text{m}$  de diâmetro, de parede lisa e fina, algumas gutuladas, com acrofisálides presentes, hialinas. **Contexto do péilo** composto por

hifas cilíndricas com acrofisálides presentes, medindo 3–27  $\mu\text{m}$  de diâmetro, de parede lisa e fina, formando uma trama entrelaçada, hialinas, com fíbulas presentes. **Superfície do píleo** ixotricodermal e densamente gelatinizada na superfície externa do píleo (camada de 170–200  $\mu\text{m}$  de espessura) e em forma de uma cútis na superfície interna do píleo (camada de 90–160), totalizando uma espessura total de 200–300  $\mu\text{m}$ , ambas com hifas cilíndricas medindo de 2–5  $\mu\text{m}$  de diâmetro, de parede lisa e fina, com fíbulas. **Contexto do estipe** hifas cilíndricas, com presença de acrofisálides, medindo de 3–30  $\mu\text{m}$  de diâmetro, de parede lisa e fina, organizadas paralelamente, hialinas. **Superfície do estipe** formada por uma cútis delgada com alguns elementos hifais cilíndricos mais calibrosos, medindo de 4–20  $\mu\text{m}$  de diâmetro, de parede lisa e fina, hialinas. **Remanescentes do véu universal no píleo** abundantes no material analisado, formadas por hifas globosas, piriformes a clavadas, de 27–57  $\times$  10–45  $\mu\text{m}$ , de parede lisa e fina, hialinas, com fíbulas na base. **Remanescentes do véu universal no estipe** formado por hifas globosas, piriformes a clavadas, medindo de 25–76  $\times$  11–35  $\mu\text{m}$ , de parede lisa e fina, hialinas, com fíbulas na base. **Remanescentes do véu parcial** hifas globosas, piriformes a clavadas, porém mais colapsadas devido a desestruturação do anel conforme maturação do basidioma, medindo 16–40  $\times$  10–23  $\mu\text{m}$ , de parede lisa e fina, hialinas. **Fíbulas** presentes na base dos basídios, contextos, superfície do píleo e superfície do estipe. **Hábito e hábitat:** solitário, crescendo em solo, em Floresta Amazônica. **Espécimes examinados:** BRASIL, MATO GROSSO. Alta Floresta, Trilha Serra Nova, 31 Dez 2016, *CJL* 221; Alta Floresta, Trilha Taboca, 03 Jan 2017, *CJL* 258.

**Comentários:** Em princípio, os espécimes de *Amanita* sp. 7 podem ser confundidos com membros da seção *Vaginatae*, principalmente pelos remanescentes da volva, que aparentam formar linhas transversais em torno no estipe do estipe. Contudo, morfológicamente, *Amanita* sp. 7 está inclusa em *Amanita* subgênero *Amanita* seção *Amanita* pela base levemente bulbosa do estipe, presença de remanescentes do véu parcial e presença de fíbulas, características não ocorrentes em *Amanita* seção *Vaginatae*.

Este táxon se compara com *Amanita friabilis* por compartilharem coloração do basidioma, formato friável da volva e anel fugaz tendendo a estar ausente em basidiomas maduros (Tulloss & Traverso 2001). Os basidiósporos de *A. friabilis* aparentemente são maiores, medindo até

12,7 µm de comprimento (Tulloss & Traverso 2001). A coloração do píleo e o formato das escamas se apresenta diferente em *Amanita* sp. 7, sendo mais escuro e com escamas espessas, muitas vezes piriformes, com coloração cinza na parte basal e branca na parte apical superior.



**Figura 18.** Microcaracterísticas de *Amanita* sp. 7. A: basidiólos e subhimênio; B: remanescentes do véu parcial; C: superfície do estipe; D: superfície do píleo; E: remanescentes do véu universal no píleo; F: remanescentes do véu universal no estipe. Barras: 10  $\mu$ m.

***Amanita* sp. 8** (Figura 19 e Figura 23 E, F e G)

***Péleo*** 30–90 mm de diâmetro, convexo aplanado, margem reta a decurvada (basidioma imaturo), coloração cinza-chumbo (OAC 904, OAC 905) com fibrilas marrom escuras (OAC 635), superfície fibrilosa a abundantemente escamosa a escamulosa quando imaturo, margem inteira, contexto branco (OAC 909). ***Lamelas*** livres, coloração creme (OAC 816), amplas, próximas, margem inteira a crenada, lamélulas presentes. ***Estipe*** 70–150 × 14–16 mm, central, cilíndrico a clavado, com base medianamente bulbosa a fusiforme, cinza claro (OAC 865), abundantemente escamuloso cinza claro (OAC 906) quando imaturo, contexto branco (OAC 909). ***Remanescentes do véu universal no péleo*** na forma de escamas piriformes a achatadas, de textura macia, de coloração cinza (OAC 905, OAC 906) por toda a superfície do péleo ou somente no seu centro quando maduro. ***Remanescentes do véu universal no estipe*** na forma de um remanescente muito fino e sutil e friável, envolvendo 17 mm no estipe do estipe, de coloração cinza (OAC 905). ***Remanescentes do véu parcial*** na forma de um anel simples pendente, membranoso, muito delgado, de coloração branca (OAC 909), com a borda de coloração cinza clara (OAC 906), medindo 23 mm de comprimento ou na forma de uma “nuvem” de hifas, muito frágil, cobrindo as lamelas quando basidioma imaturo, de coloração branca (OAC 909).

***Basidiósporos*** 5–7(–7,5) × (4,6–)5,5–6,5 μm (Q<sup>3</sup>= 1,07), subglobosos a globosos, parede lisa e fina, gutulados, apiculados, hialinos, amiloides. ***Basídios*** 22–35 × 7–11 μm, clavados, parede lisa e fina, gutulados, hialinos, portando até 4 esterigmas medindo 1–5 μm de comprimento. ***Subhimênio*** do tipo celular, composto de hifas ± isodiamétricas medindo 5–20 × 7–18 μm, de parede lisa e fina, hialinas, com camada total de cerca de 4 hifas. ***Trama da lamela*** divergente, frouxamente arranjada, com hifas cilíndricas delgadas a infladas a levemente globosas, de 3–14 μm de diâmetro, de parede lisa e fina, hialinas, com hifas oleíferas presentes, sem fíbulas. ***Contexto do péleo*** composto por hifas elipsoides a cilíndricas, de 3–23 μm de diâmetro, de parede lisa e fina, formando uma camada frouxa e entrelaçada, hialinas, sem fíbulas. ***Superfície do péleo*** uma cútis de ± 100 μm de diâmetro total, composta por hifas cilíndricas de 4–11 μm de diâmetro, de parede lisa e fina, pigmentadas de marrom, com aparência de cordões espiralados no interior das hifas, sem fíbulas quando imaturo; quando maduro se apresenta na forma de uma cútis



frouxa e espessa, com hifas cilíndricas de 3–14  $\mu\text{m}$  de diâmetro, de parede lisa e fina, pigmentadas de castanho, com camada total de 250–400  $\mu\text{m}$  de espessura, fracamente gelatinizada. **Contexto do estipe** presença de acrofisálides e hifas cilíndricas medindo 3–33  $\mu\text{m}$  de diâmetro, de parede lisa e fina, hialinas, organizadas paralelamente, com presença de escassas hifas oleíferas, sem fíbulas. **Superfície do estipe** na forma de uma cútis de camada total de cerca de 3 hifas cilíndricas de 4–13  $\mu\text{m}$  de diâmetro, de parede lisa e fina, levemente pigmentadas de castanho, sem fíbulas, algumas com conteúdo externalizado de difícil delimitação. **Remanescentes do véu universal no píleo** hifas globosas a elipsoides, algumas com pequenas projeções no ápice, medindo 18–114  $\times$  15–55  $\mu\text{m}$ , de parede lisa e fina a levemente espessada (de até 1  $\mu\text{m}$  de espessura), hialinas. **Remanescentes do véu universal no estipe** hifas globosas a elipsoides de 18–86  $\times$  9–65  $\mu\text{m}$ , suportadas por hifas cilíndricas, de parede lisa e fina, hialinas, sem fíbulas. **Remanescentes do véu parcial** composto de hifas globosas a elipsoides a piriformes, algumas com uma leve projeção no ápice, medindo 9–72  $\times$  9–19  $\mu\text{m}$ , de parede lisa e fina, hialinas, sem fíbulas. **Fíbulas** ausentes.

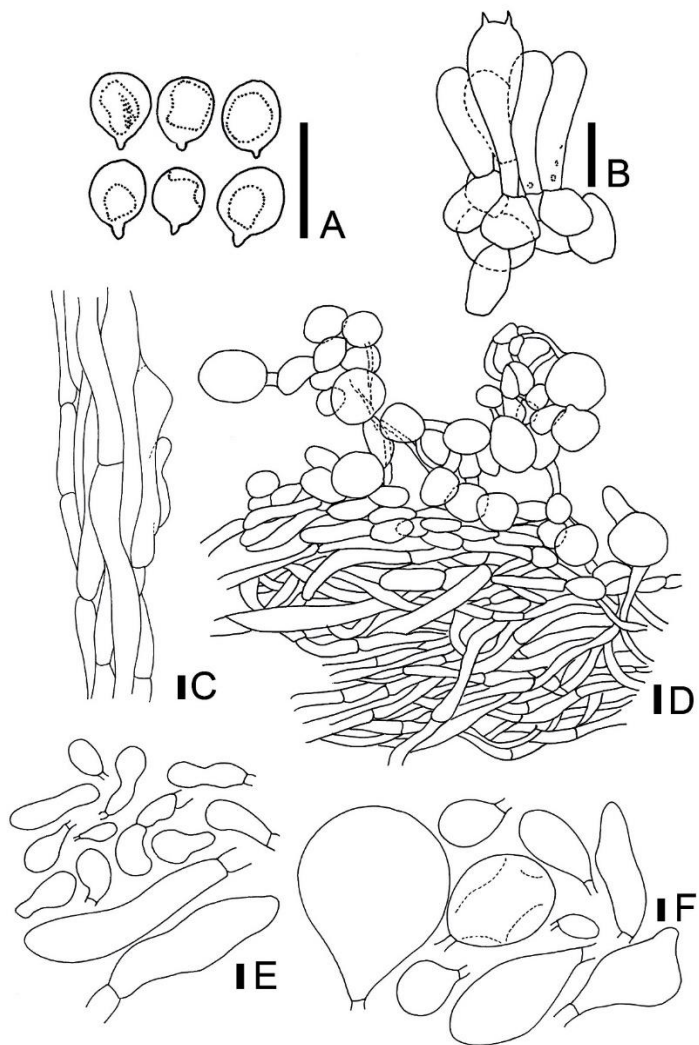
**Hábito e hábitat:** Solitário, crescendo em solo.

**Espécimes examinados:** BRASIL. SANTA CATARINA: Florianópolis, Morro da Lagoa da Conceição, 09 Abr 2013, *Magnago* AC 580. MATO GROSSO: Alta Floresta, Trilha Taboca, 03 Jan 2017, *CJL* 263; MATO GROSSO: Alta Floresta, Reserva Particular do Patrimônio Natural Cristalino, Trilha da Torre 2, 9°35'50"S 55°55'27"W, elevação 250 metros, 15 Jan 2018, *Simon-Cardoso* J 150.

**Comentários:** Este táxon pertence a *Amanita* subgênero *Lepidella* seção *Lepidella* devido a não estriação das margens do píleo e pela amiloidia dos basidiósporos. O píleo de *Amanita* sp. 8 é muito similar a membros de *Amanita* seção *Phalloideae*, com presença de fibrilas longitudinais. Contudo, o que faz essa espécie estar inclusa em *Amanita* seção *Lepidella* é a a volva pouco desenvolvida e anel apendiculado, apesar de não possuir uma margem tão apendiculada no basidioma maduro coletado, a qual ocorre na maioria dos membros desta seção. Essa margem apendiculada pode estar ausente devido a senescência dos basidiomas maduros analisados, mas constatada nos basidiomas imaturos, ainda com o véu parcial cobrindo o himenóforo.

*Amanita* sp. 8 é semelhante à *Amanita cinereoconia* Bas descrita por Bas (1969) para os Estados Unidos. Ambas são semelhantes devido a

coloração acinzentada do basidioma e pela volva variar entre pulverulenta e verrucosa, muito sutil nos basidiomas analisados. Entretanto varia no tamanho dos basidiósporos e base do estipe, os quais possuem maior diâmetro em *A. cinereoconia*.



**Figura 19.** Microcaracterísticas de *Amanita* sp. 8. A: basidiósporos; B: basídios e subhimênio; C: superfície do estipe; D: superfície do píleo e remanescentes do véu universal no píleo; E: remanescentes do véu parcial; F: remanescentes do véu universal no estipe. Barras: 10  $\mu$ m.

***Amanita sp. 9*** (Figura 20 e Figura 23 H, I e J)

***Péleo*** 25 mm de diâmetro, plano a convexo, margem reta, marrom acinzentado claro nas margens (OAC 724, OAC 843) e marrom mais escuro em direção ao centro (OAC 641, OAC 722), superfície lisa, margem inteira a levemente apendiculada. ***Lamelas*** livres a levemente sinuadas, creme (OAC 816), estreitas, margem inteira a levemente crenada, próximas, secas. ***Estipe*** 40 mm × 5 mm, central, cilíndrico com a base abruptamente bulbosa (10 mm de diâmetro), branco (OAC 909), superfície fibrilosa. ***Remanescentes do véu universal no péleo*** ausentes na superfície do péleo, porém presença de remanescentes do véu por toda a margem do péleo, de coloração branca (OAC 909). ***Remanescentes do véu universal no estipe*** na forma de uma volva sacada aderida a base do estipe e amplamente solta na sua porção apical, quando a parte bulbosa do estipe se encerra, se expandindo para os lados, de coloração branca (OAC 909) a levemente bege (OAC 816). ***Remanescentes do véu parcial*** na forma de um anel branco (OAC 909), simples, pendente em formato de saia, membranoso, medindo 8 mm de comprimento.

***Basidiósporos*** (8-)9-10,5 × 5,5-7 μm (Q'= 1,55), elipsoides, parede lisa e fina, gutulados, com apícula evidente, amiloides, hialinos. ***Basídios*** 37-52 × 11-13 μm, clavados, parede lisa e fina, gutulados, hialinos, portando até 4 esterigmas medindo 3-5,5 μm de comprimento. ***Subhimênio*** do tipo celular, com uma camada de até 4 hifas ± isodiamétricas a globosas, com algumas se ramificando, medindo 6-18 × 8-18 μm, de parede lisa e fina, hialinas. ***Trama da lamela*** nitidamente divergente, com hifas cilíndricas de 3-12 μm de diâmetro, de parede lisa e fina, algumas portando ramificações em "H", regularmente septadas, hialinas com algumas levemente refringentes (com conteúdo oleífero), sem fíbulas. ***Contexto do péleo*** composto por hifas cilíndricas a quase elipsoides, de 4-18 μm de diâmetro, de parede lisa e fina, hialinas, sem fíbulas. ***Superfície do péleo*** formada por uma ixotricoderme densamente gelatinizada na porção da superfície externa do péleo e na forma de uma cútis na porção da superfície interna do péleo, totalizando 180-250 μm de espessura, com hifas cilíndricas de 1-7 μm de diâmetro, de parede lisa e fina, hialinas, inamiloides e sem fíbulas. ***Contexto do estipe*** hifas cilíndricas de parede lisa e fina, de 5-21 μm de diâmetro, de parede lisa e fina, hialinas, organizadas paralelamente, com presença de algumas hifas oleíferas e ausência de fíbulas. ***Superfície do estipe*** formada por uma cútis com alguns elementos cilíndricos com maior diâmetro e hifas

globosas, totalizando uma espessura total de 40–80  $\mu\text{m}$ , com hifas de parede lisa e fina, medindo de 4–25  $\mu\text{m}$  de diâmetro, hialinas, sem fíbulas.

**Remanescentes do véu universal no estipe** composto por hifas globosas, cilíndricas e piriformes, medindo 19–49  $\times$  12–44  $\mu\text{m}$ , de parede lisa e fina, hialinas, abundantes no material analisado, sem fíbulas.

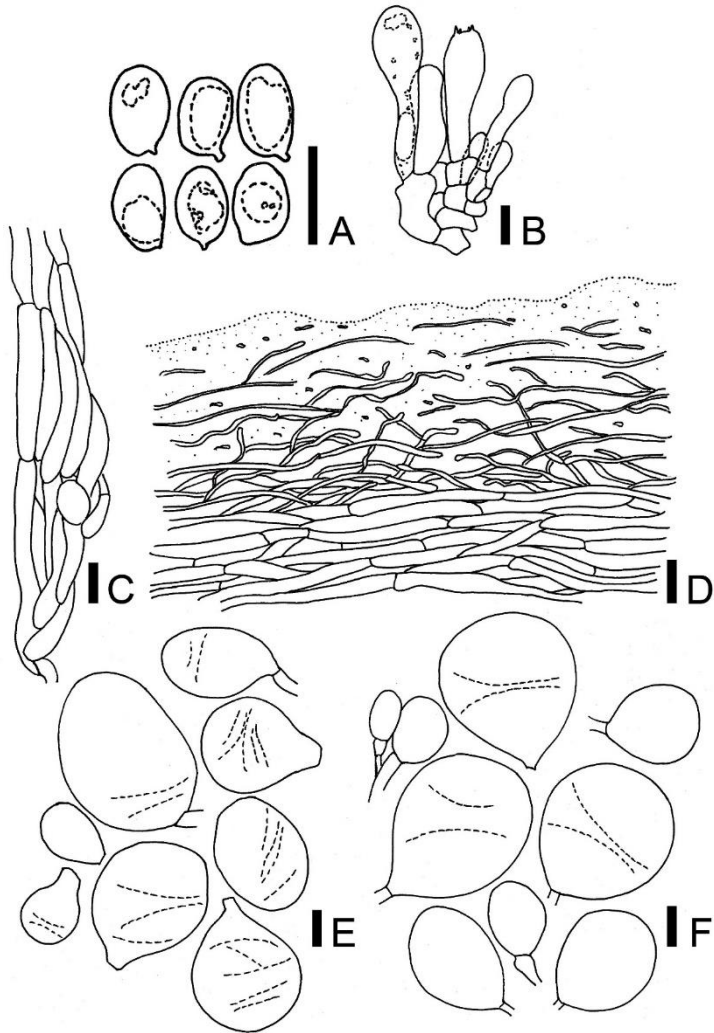
**Remanescentes do véu parcial** hifas globosas a piriformes de 20–47  $\times$  12–38  $\mu\text{m}$ , de parede lisa e fina, hialinas. **Fíbulas** ausentes.

**Hábito e hábitat:** solitário, crescendo em solo, em Floresta Amazônica.

**Espécime examinado:** BRASIL, MATO GROSSO. Alta Floresta, Trilha do Cacau, 04 Jan 2017, *CJL* 290.

**Comentários:** *Amanita* sp. 9 está incluída em *Amanita* subgênero *Lepidella* pela amiloidia pelo píleo não sulcado e amiloidia dos basidiósporos. Dentro deste subgênero, se enquadra em *Amanita* seção *Lepidella* por apresentar o píleo apendiculado, coloração pálida do píleo e volva bem desenvolvida.

Devido ao aspecto membranoso e “limbado” da volva e estipe com base bulbosa, esse táxon se agrupa a membros de *Amanita* subseção *Limbatulae* Bas. Assemelha-se macroscopicamente à *Amanita cylindrispora* Beardslee, contudo há uma ampla divergência no formato dos esporos, sendo cilíndricos (como o nome sugere) em *A. cylindrispora* (Beardslee 1936) e elipsoides em *Amanita* sp. 9.



**Figura 20.** Microcaracterísticas de *Amanita* sp. 9. A: basidiósporos; B: basídios e subhimênio; C: superfície do estipe; D: superfície do píleo; E: remanescentes do véu parcial; F: remanescentes do véu universal no estipe. Barras: 10  $\mu$ m.

***Amanita* sp. 10** (Figura 21 e Figura 23 K e L)

**Píleo** 90 mm, convexo, fibriloso, preto, centro “*velvet*”, margem levemente apiculada, preta. **Lamelas** brancas, livres, 6 mm de comprimento. **Estipe** 170 mm de comprimento, 9 mm de diâmetro, fibriloso, fundo branco, fibrilas pretas, porção acima do anel de coloração branca. **Anel** branco, único, de aspecto membranoso, com comprimento total de 20 mm (desde o início da porção presa ao estipe até a porção solta pendida). **Remanescentes do véu universal no estipe** com uma volva muito sutil, friável, de mesma coloração do estipe.

**Basidiósporos** 6–8 × 5–7 µm, largamente elipsoides, parede lisa e fina, gutulados (com algumas gúttulas parecendo grânulos), apículo evidente, amiloides, hialinos. **Basídios** 36–46 × 9–11(–13) µm, clavados, parede lisa e fina, 4 esterigmas medindo de 2–5 µm de comprimento, gutulados, hialinos. **Subhimênio** do tipo celular, com hifas ± isodiamétricas de 13–17 × 10–16 µm, com 3–4 camadas de hifas, parede lisa e fina, hialinas. **Trama da lamela** divergente, com hifas cilíndricas e acrofisálides no estrato lateral medindo 10–21 µm de diâmetro, de parede lisa e fina, hialinas e hifas menos calibrosas no estrato central, medindo 3–8 µm, de parede lisa e fina, hialinas. **Contexto do píleo** composto de acrofisálides, de 13–46(–64) µm de diâmetro, de parede lisa, hialinas. **Superfície do píleo** superfície externa do píleo ixotricodermal, com espessura total de ± 400 µm, composta de hifas cilíndricas de 5–9 µm, de parede lisa e fina, levemente pigmentadas de marrom, superfície interna do píleo formando uma camada total de 250 µm de espessura, com hifas medindo de 3–6 µm de diâmetro, cilíndricas, parede lisa e fina, hialinas. **Contexto estipe** composto de hifas mais finas e de acrofisálides, ambas de parede lisa e fina, organizadas paralelamente, medindo de 4–38 µm, hialinas. **Superfície do estipe** formada por uma cútis de até 40 µm de espessura total, com hifas cilíndricas de 4–11 µm de diâmetro, de parede lisa e fina, algumas gutuladas, coloração levemente amarronzada. **Remanescentes do véu universal no píleo** presentes como uma sutil camada nas margens do píleo, porém não visualizada no material desidratado e, por isso, não examinada microscopicamente. **Remanescentes do véu universal no estipe** hifas 23–85 × 14–83 µm, infladas, piriformes a quase globosas, de parede lisa e fina, hialinas. **Remanescentes do véu parcial** composto de hifas levemente globosas, de 23–46 × 11–22 µm, hialinas. **Fíbulas** ausentes.

**Hábito e hábitat:** Solitário, crescendo em solo, em Mata Atlântica.

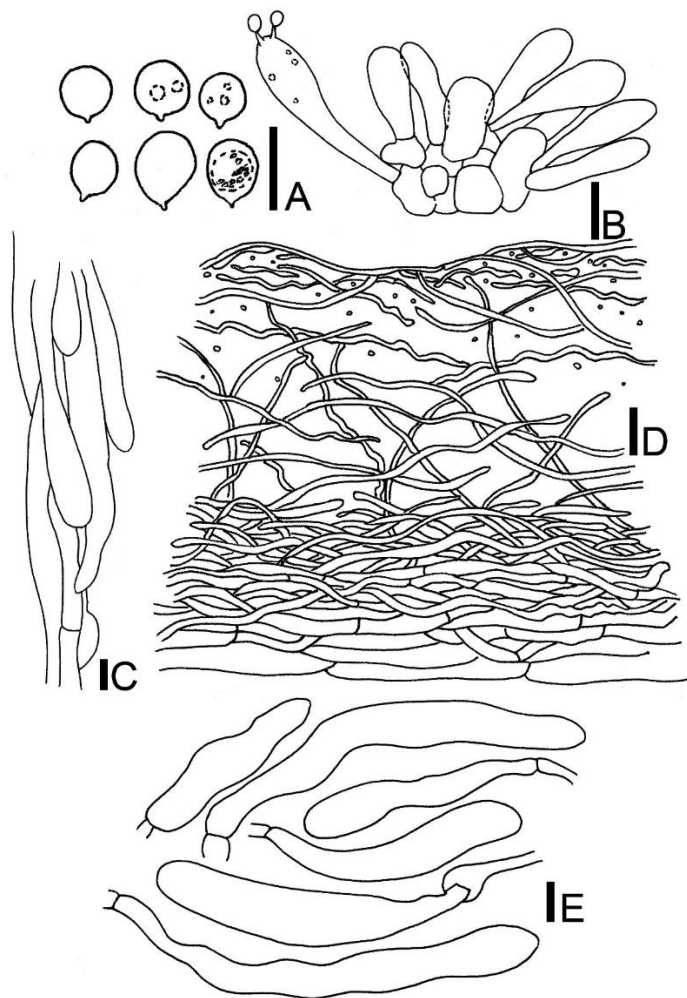
**Espécime examinado:** BRASIL. ESPÍRITO SANTO: Santa Teresa, Reserva Biológica Rebio Augusto Ruschi (Trilha Cachoeira), 04 Dez 2012, *Magnago AC 505*.

**Comentários:** Material muito semelhante à *Amanita* sp. 8. Contudo, a coloração do estipe mais clara, anel membranoso e mais espesso, volva com coloração branca e vestígios de um sutil apêndice na margem do píleo fazem *Amanita* sp. 10 divergir de *Amanita* sp. 8.

Microscopicamente diferem no tamanho dos basidiósporos, os quais são maiores e mais elipsoides em *Amanita* sp. 10 e a morfologia da superfície do píleo, a qual se mostra na forma de uma ixocútis espessa em *Amanita* sp. 10 e na forma de uma cútis em *Amanita* sp. 8.

Apenas um basidioma foi coletado e analisado, havendo a necessidade de mais coletas afim de confirmar a identidade de *Amanita* sp. 10.





**Figura 21.** Microcaracterísticas de *Amanita* sp. 10. A: basidiósporos; B: basídios e subhimênio; C: superfície do estipe; D: superfície do píleo; E: remanescentes do véu parcial.



**Figura 22.** Basidiomas de *Amanita*. A e B: *Amanita campinaranae* (ambas ACM 1012); C e D: *Amanita lanivolvae* (LF 15 e ACM 506); E e F: *Amanita phalloides* (ambas LD 001); G: *Amanita rubescens* (GS 002); H e I: *Amanita viscidolutea* (GS 035 e EC 150). Barras: 1 cm. Fotos A e B: Raquel Friedrich, C: Lara Ferst, D: Atilielys Casale Magnago, E e F: Letícia Donadel, G e H: Gisele Scheibler, I: Emanuele Copini.



**Figura 23.** Basidiomas de *Amanita*. A, B, C e D: *Amanita* sp. 7, em C mostrando detalhes da volva e em D mostrando detalhes do píleo e das escamas (CJL 221, CJL 258, CJL 258, CJL 258); E, F e G: *Amanita* sp. 8 em dois estados de maturação (CJL 263, CJL 263 e JS 150); H, I e J: *Amanita* sp. 9, sendo em J detalhes no estipe abrupto do estipe com a volva limbada subindo acima dele (todas CJL 290); K e L: *Amanita* sp. 10 (ambas ACM 505). Barras: 1 cm. Fotos: A, B, C, D, E, F, G, H, I, J: Susanne Sourell, K e L: Altielys Casale Magnago.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bas, C. (1969). Morphology and subdivision of *Amanita* and a monograph of its section *Lepidella*. *Persoonia-Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi*, 5(4), 285-573.
- Bas, C. (1978). Studies in *Amanita*—I. Some species from Amazonia. *Persoonia-Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi*, 10(1), 1-22.
- Beardslee, H. C. (1936). A new *Amanita* and notes on *Boletus subalbellus*. *Journal of the Elisha Mitchell Scientific Society*, 52(1), 105-106.
- Benson, D. A., Karsch-Mizrachi, I., Lipman, D. J., Ostell, J., & Wheeler, D. L. (2005). GenBank. *Nucleic acids research*, 33(suppl\_1), D34-D38.
- Bhatt, R. P., Mehmood, T., Uniyal, P., & Singh, U. (2017). Six new records of genus *Amanita* (Amanitaceae) from Uttarakhand, India. *Current Research in Environmental & Applied Mycology*, 7(3), 161-182.
- Cai, Q., Tang, L. P., & Yang, Z. L. (2012). DNA barcoding of economically important mushrooms: a case study on lethal amanitas from China. *Plant Divers Resour*, 34(6), 614-622.
- Cai, Q., Tulloss, R. E., Tang, L. P., Tolgor, B., Zhang, P., Chen, Z. H., & Yang, Z. L. (2014). Multi-locus phylogeny of lethal amanitas: Implications for species diversity and historical biogeography. *BMC Evolutionary Biology*, 14(1), 143.
- Capelari, M., & Maziero, R. (1988). Fungos macroscópicos do estado de Rondônia região dos Rios Jaru e Ji-Paraná. *Hoehnea*, 15, 28-36.
- Corner, E. J. H., & Bas, C. (1962). The genus *Amanita* in Singapore and Malaya. *Persoonia-Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi*, 2(3), 241-304.
- Darriba, D.; Taboada, G.L.; Doallo, R.; Posada, D. (2012) jModelTest 2: more models, new heuristics and parallel computing. *Nat Methods* 9:772.
- Davison, E. M., McGurk, L. E., Bougher, N. L., Syme, K., & Watkin, E. L. (2013). *Amanita lesueurii* and *A. wadjukiorum* (Basidiomycota), two new species from Western Australia, and an expanded description of *A. fibrilloses*. *Nuytsia*, 23, 589-606.
- Doyle, J. J. & Doyle, J. L. (1987). A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochem. Bull.*, 19, 11-15.
- Fosco-Mucci, E. S., & Yokomizo, N. K. S. (1985). Ocorrência de *Amanita* em plantações de Pinus no estado de São Paulo. *Fitopatologia Brasileira*, 10, 340.

- Giachini, A. J., Oliveira, V. L., Castellano, M. A., & Trappe, J. M. (2000). Ectomycorrhizal fungi in *Eucalyptus* and *Pinus* plantations in southern Brazil. *Mycologia*, 1166-1177.
- Góes-Neto, A., Loguercio-Leite, C., & Guerrero, R. T. (2005). DNA extraction from frozen fieldcollected and dehydrated herbarium fungal basidiomata: performance of SDS and CTAB-based methods. *Biotemas*, 18(2), 19-32.
- Grandi, R. A. P., Guzmán, G., & Bononi, V. L. (1984). Adições às Agaricales (Basidiomycetes) do Parque Estadual das Fontes do Ipiranga, São Paulo, SP, Brasil. *Rickia* 11: 27–33.
- Guindon, S.; Dufayard, J.F.; Lefort, V.; Anisimova, M.; Hordijk, W.; Gascuel, O. (2010) New Algorithms and Methods to Estimate Maximum-Likelihood Phylogenies: Assessing the Performance of PhyML 3.0. *Systematic Biology*, 59(3):307-21.
- Homrich, M. H. (1965). Nota sobre *Amanita muscaria* (L. ex Fr.) Pers. ex Hooker no planalto Riograndense. *Sellowia*, 17(1), 77-78.
- Katoh, K., & Standley, D. M. (2013). MAFFT multiple sequence alignment software version 7: improvements in performance and usability. *Molecular biology and evolution*, 30(4), 772-780.
- 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.
- Kim, C. S., Jo, J. W., Kwag, Y. N., Oh, J., Shrestha, B., Sung, G. H., & Han, S. K. (2013). Four newly recorded *Amanita* species in Korea: *Amanita* sect. *Amanita* and sect. *Vaginatae*. *Mycobiology*, 41(3), 131-138.
- Kramer, L. A. (2004). The online auction color chart. Online Auction Color Chart Company, Stanford.
- Kranabetter, J. M., Friesen, J., Gamiel, S., & Kroeger, P. (2009). Epigeous fruiting bodies of ectomycorrhizal fungi as indicators of soil fertility and associated nitrogen status of boreal forests. *Mycorrhiza*, 19(8), 535-548.
- Kumar, S., Stecher, G., & Tamura, K. (2016). MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 7.0 for bigger datasets. *Molecular biology and evolution*, 33(7), 1870-1874.

- Largent, D.L. (1977). How to identify mushrooms to genus I: macroscopic features. Mad River Press Inc. 86 pp.
- Li, F., & Cai, Q. (2014). *Amanita heishidingensis*, a new species of *Amanita* sect. *Lepidella* from China. Mycological Progress, 13(4), 1008.
- Magnago, A. C., Furtado, A. N. M., Urrea-Valencia, S., Freitas, A. F., & Neves, M. A. (2015). New records of agaricoid fungi (Basidiomycota) from Paraíba, Brazil. Revista Biotemas, 28, 4.
- McGurk, L., Giustiniano, D., Davison, E., & Watkin, E. (2016). *Amanita wadulawitu* (Basidiomycota), a new species from Western Australia, and an expanded description of *A. kalamundae*. Nuytsia, 27, 21-30.
- Meijer, A. A. de. (2001). Mycological work in the Brazilian state of Paraná. Nova Hedwigia, 105-159.
- Meijer, A. A. de. (2006). Preliminary list of the macromycetes from the Brazilian State of Paraná. Bol Mus Bot Municipal, 68, 1-55.
- Menolli Jr, N., Capelari, M., & Baseia, I. G. (2009). *Amanita viscidolutea*, a new species from Brazil with a key to Central and South American species of *Amanita* section *Amanita*. Mycologia, 101(3), 395-400.
- Miller, M. A., Pfeiffer, W., & Schwartz, T. (2010). Creating the CIPRES Science Gateway for inference of large phylogenetic trees. In Gateway Computing Environments Workshop (GCE), 2010 (pp. 1-8). IEEE.
- Nascimento, C. C., Sá, M. C., Luiz Bezerra, J., & Wartchow, F. (2018). *Amanita dulciodora* (Amanitaceae, Basidiomycota), a striking new species of *Amanita* section *Lepidella* from Northeast Brazil. Plant Ecology and Evolution, 151(2), 262-270.
- Oda, T., Tanaka, C., & Tsuda, M. (2004). Molecular phylogeny and biogeography of the widely distributed *Amanita* species, *A. muscaria* and *A. pantherina*. Mycological Research, 108(8), 885-896. doi:10.1017/S0953756204000620
- Oda, T., Tanaka, C., & Tsuda, M. (1999). Molecular phylogeny of Japanese *Amanita* species based on nucleotide sequences of the internal transcribed spacer region of nuclear ribosomal DNA. Mycoscience, 40(1), 57-64.
- Oda, T., Yamazaki, T., Tanaka, C., Terashita, T., Taniguchi, N., & Tsuda, M. (2002). *Amanita ibotengutake* sp. nov., a poisonous fungus from Japan. Mycological Progress, 1(4), 355-365.
- Osmundson, T. W., Robert, V. A., Schoch, C. L., Baker, L. J., Smith, A., Robich, G., ... & Garbelotto, M. M. (2013). Filling gaps in biodiversity

- knowledge for macrofungi: contributions and assessment of an herbarium collection DNA barcode sequencing project. *PloS one*, 8(4), e62419.
- Pegler, D. N. (1997). *The agarics of São Paulo, Brasil*, Royal Botanic Gardens, Kew, London.
- Pringle, A., & Vellinga, E. C. (2006). Last chance to know? Using literature to explore the biogeography and invasion biology of the death cap mushroom *Amanita phalloides* (Vaill. ex Fr.: Fr.) Link. *Biological Invasions*, 8(5), 1131-1144.
- Rick, J. (1906). *Pilze aus Rio Grande do Sul:(Brasilien)*.
- Rick, J. (1930). *Contributio IV ad monographiam agaricearum Brasiliensium*. *Broteria*, 24, 97-118.
- Smith, M. E., Henkel, T. W., Uehling, J. K., Fremier, A. K., Clarke, H. D., & Vilgalys, R. (2013). The ectomycorrhizal fungal community in a Neotropical forest dominated by the endemic dipterocarp *Pakaraimaea dipterocarpacea*. *PLoS one*, 8(1), e55160.
- Sobestiansky, G. (2005). Contribution to a macromycete survey of the States of Rio Grande do Sul and Santa Catarina in Brazil. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 48(3), 437-457.
- Thongbai, B., Tulloss, R. E., Miller, S. L., Hyde, K. D., Chen, J., Zhao, R., & Raspe, O. (2016). A new species and four new records of *Amanita* (Amanitaceae; Basidiomycota) from Northern Thailand. *Phytotaxa*, 286(4), 211-231.
- Tulloss, R. E., & Traverso, M. (2001). *Amanita basiana* - A new species from pure *Pinus* Forest and resembling the alnus-associated species *Amanita friabilis*. [tullabs.com] accessed January, 2019.
- Tulloss, RE, Yang, ZL, eds.. 2019. Welcome. in Tulloss RE, Yang ZL, eds. *Amanitaceae studies*. [ <http://www.amanitaceae.org?Welcome> ]. accessed January, 2019.
- Vargas, N., Bernal, A., Sarria, V., Franco-Molano, A., & Restrepo, S. (2011). Amatoxin and phalloxin composition in species of the genus *Amanita* in Colombia: A taxonomic perspective. *Toxicon*, 58(6-7), 583-590.
- Wartchow, F. (2015). *Amanita tenacipulvis*, a new species from Amazonian campinarana. *Sydowia*, 67, 75-79.
- Wartchow, F. (2016). *Amanita viridissima* (Amanitaceae, Basidiomycota), a striking new species from highlands of the semiarid region of Bahia, Brazil. *Plant Ecology and Evolution*, 149(2), 241-248.

- Wartchow, F. (2017). O gênero *Amanita* (Fungi): Sistemática e distribuição no Brasil. *Pesquisa e Ensino em Ciências Exatas e da Natureza*, 1(1), 28-44.
- Wartchow, F., Cortez, V. G., & Cavalcanti, M. A. Q. (2015). Studies on *Amanita* (Amanitaceae) in Brazil: the discovery of *A. aureofloccosa* in the Brazil. *Brazilian Journal of Botany*, 38(3), 639-643.
- Wartchow, F., & Cortez, V. G. (2016). A new species of *Amanita* growing under *Eucalyptus* is discovered in South Brazil. *Mycosphere*, 7, 262-267.
- Wartchow, F., & Maia, L. C. (2007). The neotropical *Amanita crebresulcata* Bas: new citation from Northeast Brazil. *Hoehnea*, 34(2), 131-134.
- Wartchow, F., Maia, L. C. & Cavalcanti M. A. Q. (2012). Studies on *Amanita* (Agaricomycetidae, Amanitaceae) in Brazil: two yellow gemmatoid taxa. *Nova Hedwigia*, 96(1-2), 61-71.
- Wartchow, F., Sulzbacher, M. A., & Baseia, I. G. (2015). *Amanita psammolimbata*, a new species from Northeastern Brazilian sand dunes. *Mycosphere*, 6, 260-265.
- Wartchow, F., Tulloss, R. E., & Cavalcanti, M. A. (2007). The discovery of *Amanita lilloi* in Brazil. *Mycotaxon*, 99, 167-174.
- Wartchow, F., Tulloss, R. E., & Cavalcanti, M. A. Q. (2009). *Amanita lippiae*: a new species from the semi-arid caatinga region of Brazil. *Mycologia*, 101(6), 864-870.
- Weiß, M., Yang, Z. L., & Oberwinkler, F. (1998). Molecular phylogenetic studies in the genus *Amanita*. *Canadian Journal of Botany*, 76(7), 1170-1179.
- White, T. J., Bruns, T., Lee, S., & Taylor, J. W. (1990). San Diego. PCR protocols: a guide to methods and applications Academic Press Inc, 315-322.
- Yang, Z. L. (1997). Die *Amanita*-Arten von Südwestchina.
- Zhang, L. F., Yang, J. B., & Yang, Z. L. (2004). Molecular phylogeny of eastern Asian species of *Amanita* (Agaricales, Basidiomycota): taxonomic and biogeographic implications.



## CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente trabalho expande o conhecimento de *Amanita* para o Brasil, ampliando o conhecimento e distribuição de espécies descritas anteriormente e fornecendo dados acerca de dez novidades científicas. Além disso, é um trabalho pioneiro por fornecer a primeira filogenia do grupo para o Brasil. O compilado das análises realizadas neste estudo amplia o número de 26 para 36 espécies de *Amanita* ocorrentes no território brasileiro.

Com este trabalho, o número de espécies da seção *Vaginatae* descritas para o Brasil mais do que dobrou em relação ao número de espécies anteriormente conhecidas para o país, aumentando de 5 para 11.

Foram obtidas 31 sequências de DNA da região ITS, contudo não houve sucesso na amplificação e conseqüentemente no sequenciamento desta região para 3 táxons (*Amanita campinaranae*, *Amanita lanivolvula* e *Amanita* sp. 10). A extração de DNA desses espécimes foi repetida e o protocolo de amplificação foi ajustado duas vezes, porém seguiu sem sucesso. Os espécimes dessas espécies são referentes a coletas dos anos de 2012 e 2014 recebidas de colaboradores, não havendo certeza da temperatura utilizada para a desidratação dos basidiomas, fator que pode ter interferido na degradação do DNA.

Quanto à região LSU, foi obtido sucesso na amplificação de apenas 18 espécimes (de um total de 34 espécimes) com aplicação de dois protocolos diferentes. Contudo, dentre as 18 sequências geradas só foi possível a utilização de duas delas por conta da baixa qualidade dos cromatogramas resultantes das demais.

Devido a isso, sugere-se a repetição das amplificações utilizando outros protocolos ou aprimorando a etapa de purificação a fim de que esta não interfira tanto na qualidade dos cromatogramas. Outra possibilidade seria a utilização *kit* de extração para essas amostras ou envio para sequenciamento de DNA em outros locais que oferecem esse serviço. Além disso, a inclusão nas análises de outras regiões do DNA poderão corroborar a posição filogenética dos táxons do grupo.

Quanto à morfologia, as características da volva se mostraram primordiais para a delimitação de algumas espécies, principalmente as da seção *Vaginatae*. Notou-se também a variedade de coloração e tamanho dos basidiomas agrupadas em uma mesma espécie. Em virtude disso,

descrições completas e abundantemente detalhadas, além de boas fotografias dos basidiomas ainda frescos, são de suma importância para a identificação das espécies.

Ainda não há registro de representantes das seções *Caesareae* e *Amidella* para o Brasil e o único registro de representantes da seção *Phalloideae* se deu neste trabalho com a citação de *Amanita phalloides* em região de plantação de *Pinus*.

A continuidade de coletas do grupo, principalmente em outras formações vegetacionais do Brasil, é muito importante para complementar o conhecimento da sistemática e da possibilidade de descrições de novas espécies, ocorrências e seções de *Amanita*. Conseqüentemente esses dados aumentam o conhecimento da biodiversidade de fungos no Brasil.

Objetiva-se ainda refazer algumas análises moleculares a fim de melhorar a qualidade dos dados e publicá-los em revista científica. Outro artigo a ser elaborado e veiculado em forma de texto de divulgação é acerca da ocorrência da letal *Amanita phalloides* e de espécies tóxicas ocorrentes no Brasil e como reconhecê-las para evitar acidentes.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bas, C. (1969). Morphology and subdivision of *Amanita* and a monograph of its section *Lepidella*. *Persoonia-Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi*, 5(4), 285-573.
- Bas, C. (1978). Studies in *Amanita*—I. Some species from Amazonia. *Persoonia-Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi*, 10(1), 1-22.
- Bas, C. (2000). Una visione più ampia sulle *Amanita*. *Boll Gruppo G Bresadola*, 43, 9-12.
- Benson, D. A., Karsch-Mizrachi, I., Lipman, D. J., Ostell, J., & Wheeler, D. L. (2005). GenBank. *Nucleic acids research*, 33(suppl\_1), D34-D38.
- Brvar, M., Možina, M., & Bunc, M. (2006). Prolonged psychosis after *Amanita muscaria* ingestion. *Wiener Klinische Wochenschrift*, 118(9), 294-297.
- Cai, Q., Tulloss, R. E., Tang, L. P., Tolgor, B., Zhang, P., Chen, Z. H., & Yang, Z. L. (2014). Multi-locus phylogeny of lethal amanitas: Implications for species diversity and historical biogeography. *BMC Evolutionary Biology*, 14(1), 143.
- Capelari, M., & Maziero, R. (1988). Fungos macroscópicos do estado de Rondônia região dos Rios Jaru e Ji-Paraná. *Hoehnea*, 15, 28-36.
- Capelari, M.; Cortez, V.G.; Neves, M.A.; Baseia, I.G.; Wartchow, F. ; Menolli Júnior, N.; Karstedt, F.; Oliveira, J.J.S.; Urrea-Valencia, S. 2015 Agaricales in Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB95032>>.
- Corner, E. J. H., & Bas, C. (1962). The genus *Amanita* in Singapore and Malaya. *Persoonia-Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi*, 2(3), 241-304.
- Cui, Y. Y., Cai, Q., Tang, L. P., Liu, J. W., & Yang, Z. L. (2018). The family Amanitaceae: molecular phylogeny, higher-rank taxonomy and the species in China. *Fungal Diversity*, 91(1), 5-230.
- Doyle, J. J. & Doyle, J. L. (1987). A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochem. Bull.*, 19, 11-15.
- Fosco-Mucci, E. S., & Yokomizo, N. K. S. (1985). Ocorrência de *Amanita* em plantações de *Pinus* no estado de São Paulo. *Fitopatologia Brasileira*, 10, 340.

- Giachini, A. J., Oliveira, V. L., Castellano, M. A., & Trappe, J. M. (2000). Ectomycorrhizal fungi in *Eucalyptus* and *Pinus* plantations in southern Brazil. *Mycologia*, 1166-1177.
- Giachini, A. J., Souza, L. A., & Oliveira, V. L. (2004). Species richness and seasonal abundance of ectomycorrhizal fungi in plantations of *Eucalyptus dunnii* and *Pinus taeda* in southern Brazil. *Mycorrhiza*, 14(6), 375-381.
- Gilbert E.-J. (1918) Le Genre *Amanita* Persoon. *Bibliotheca Mycologica*, 53: 1–186.
- Góes-Neto, A., Loguercio-Leite, C., & Guerrero, R. T. (2005). DNA extraction from frozen fieldcollected and dehydrated herbarium fungal basidiomata: performance of SDS and CTAB-based methods. *Biotemas*, 18(2), 19-32.
- Grandi, R. A. P., Guzmán, G., & Bononi, V. L. (1984). Adições às Agaricales (Basidiomycetes) do Parque Estadual das Fontes do Ipiranga, São Paulo, SP, Brasil. *Rickia* 11: 27–33.
- Homrich, M. H. (1965). Nota sobre *Amanita muscaria* (L. ex Fr.) Pers. ex Hooker no planalto Riograndense. *Sellowia*, 17(1), 77-78.
- Justo, A., Morgenstern, I., Hallen-Adams, H. E., & Hibbett, D. S. (2010). Convergent evolution of sequestrate forms in *Amanita* under Mediterranean climate conditions. *Mycologia*, 102(3), 675-688.
- Katoh, K., & Standley, D. M. (2013). MAFFT multiple sequence alignment software version 7: improvements in performance and usability. *Molecular biology and evolution*, 30(4), 772-780.
- 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.
- Kirk, P. M., Cannon, P. F., Minter, D. W., & Stalpers, J. A. (2008). *Dictionary of the Fungi*. 10<sup>o</sup> Edition.
- Kramer, L. A. (2004). The online auction color chart. Online Auction Color Chart Company, Stanford.
- Kumar, S., Stecher, G., & Tamura, K. (2016). MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 7.0 for bigger datasets. *Molecular biology and evolution*, 33(7), 1870-1874.

- Largent, D.L. (1977). How to identify mushrooms to genus I: macroscopic features. Mad River Press Inc. 86 pp.
- Magnago, A. C., Furtado, A. N. M., Urrea-Valencia, S., Freitas, A. F., & Neves, M. A. (2015). New records of agaricoid fungi (Basidiomycota) from Paraíba, Brazil. *Revista Biotemas*, 28, 4.
- Meijer, A. A. de. (2001). Mycological work in the Brazilian state of Paraná. *Nova Hedwigia*, 105-159.
- Meijer, A. A. de. (2006). Preliminary list of the macromycetes from the Brazilian State of Paraná. *Bol Mus Bot Municipal*, 68, 1-55.
- Menolli Jr, N., Capelari, M., & Baseia, I. G. (2009). *Amanita viscidolutea*, a new species from Brazil with a key to Central and South American species of *Amanita* section *Amanita*. *Mycologia*, 101(3), 395-400.
- Miller Jr, O. K., Lodge, D. J., & Baroni, T. J. (2000). New and interesting ectomycorrhizal fungi from Puerto Rico, Mona, and Guana Islands. *Mycologia*, 558-570.
- Miller, M. A., Pfeiffer, W., & Schwartz, T. (2010). Creating the CIPRES Science Gateway for inference of large phylogenetic trees. In *Gateway Computing Environments Workshop (GCE)*, 2010 (pp. 1-8). IEEE.
- Nascimento, C. C., Sá, M. C., Luiz Bezerra, J., & Wartchow, F. (2018). *Amanita dulciodora* (Amanitaceae, Basidiomycota), a striking new species of *Amanita* section *Lepidella* from Northeast Brazil. *Plant Ecology and Evolution*, 151(2), 262-270.
- Oda T, Tanaka C, Tsuda M (1999) Molecular phylogeny of Japanese *Amanita* species based on nucleotide sequences of the internal transcribed spacer region of nuclear ribosomal DNA. *Mycoscience* 40(1):57–64.
- Pegler, D. N. (1997). The agarics of São Paulo. Brasil, Royal Botanic Gardens, Kew, London.
- Posada, D. (2008). jModelTest: phylogenetic model averaging. *Molecular biology and evolution*, 25(7), 1253-1256.
- Redhead, S. A., Vizzini, A., Drehmel, D. C., & Contu, M. (2016). *Saproamanita*, a new name for both *Lepidella* E.-J. Gilbert and *Aspidella* E.-J. Gilbert (Amaniteae, Amanitaceae). *IMA fungus*, 7(1), 119-129.
- Rick, J. (1906). Pilze aus Rio Grande do Sul: (Brasilien).
- Rick, J. (1930). Contributio IV ad monographiam agaricearum Brasiliensium. *Broteria*, 24, 97-118.
- Rick, J. (1960). Basidiomycetes Eubasidii in Rio Grande do Sul-Brasilia. 4. Meruliaceae, Polyporaceae, Boletaceae. *Iheringia*, 7.

- Ronquist, F., & Huelsenbeck, J. P. (2003). MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. *Bioinformatics*, 19(12), 1572-1574.
- Samorini, G. (1992). The oldest representations of hallucinogenic mushrooms in the world (Sahara Desert, 9000-7000 BP). *Integration*, 2(3), 69-78.
- Singer, R. 1986. *The Agaricales in modern taxonomy*. 4th ed. Koenigstein: Koeltz Scientific Books. 981 pp.
- Sobestiansky, G. (2005). Contribution to a macromycete survey of the States of Rio Grande do Sul and Santa Catarina in Brazil. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 48(3), 437-457.
- Stamatakis, A. (2014). RAxML version 8: a tool for phylogenetic analysis and post-analysis of large phylogenies. *Bioinformatics*, 30(9), 1312-1313.
- Truong, C., Sánchez-Ramírez, S., Kuhar, F., Kaplan, Z., & Smith, M. E. (2017). The Gondwanan connection–Southern temperate *Amanita* lineages and the description of the first sequestrate species from the Americas. *Fungal Biology*.
- Tulloss, R. E. (2005). *Amanita* – distribution in the Americas, with comparison to eastern and Southern Asia and notes on spore character variation with latitude and ecology. *Mycotaxon*, 93(189), e231.
- Tulloss, R. E., Kuyper, T. W. M., Vellinga, E. C., Yang, Z. L., Halling, R. E., Geml, J., Sánchez-Ramírez, S., Gonçalves, S. C., Hess, J. & Pringle, A. & Pringle, A. (2016). The genus *Amanita* should not be split. *Amanitaceae*, 1(3), 1-16.
- Tulloss, RE, Yang, ZL, eds.. 2019. Welcome. in Tulloss RE, Yang ZL, eds. *Amanitaceae studies*. [ <http://www.amanitaceae.org?Welcome> ]. accessed January, 2019.
- Vesely R. (1933) Revisio critica Amanitarum europearum. *Annales Mycologici*, 31: 209–298.
- Vizzini, A., Contu, M., Ercole, E., & Voyron, S. (2012). Rivalutazione e delimitazione del genere *Aspidella* (Agaricales, Amanitaceae), nuovamente separato da *Amanita*. *Micologia e Vegetazione Mediterranea*, 27(2), 75-90.
- Wartchow, F. (2015). *Amanita tenacipulvis*, a new species from Amazonian campinarana. *Sydowia*, 67, 75-79.
- Wartchow, F. (2016). *Amanita viridissima* (Amanitaceae, Basidiomycota), a striking new species from highlands of the semiarid region of Bahia, Brazil. *Plant Ecology and Evolution*, 149(2), 241-248.

- Wartchow, F., & Cortez, V. G. (2016). A new species of *Amanita* growing under *Eucalyptus* is discovered in South Brazil. *Mycosphere*, 7, 262-267.
- Wartchow, F., Cortez, V. G., & Cavalcanti, M. A. Q. (2015). Studies on *Amanita* (Amanitaceae) in Brazil: the discovery of *A. aureofloccosa* in the Brazil. *Brazilian Journal of Botany*, 38(3), 639-643.
- Wartchow, F., & Maia, L. C. (2007). The neotropical *Amanita crebresulcata* Bas: new citation from Northeast Brazil. *Hoehnea*, 34(2), 131-134.
- Wartchow, F., Tulloss, R. E., & Cavalcanti, M. A. (2007). The discovery of *Amanita lilloi* in Brazil. *Mycotaxon*, 99, 167-174.
- Wartchow, F., Maia, L. C. & Cavalcanti M. A. Q. (2012). Studies on *Amanita* (Agaricomycetidae, Amanitaceae) in Brazil: two yellow gemmatoid taxa. *Nova Hedwigia*, 96(1-2), 61-71.
- Wartchow, F., Sulzbacher, M. A., & Baseia, I. G. (2015). *Amanita psammolimbata*, a new species from Northeastern Brazilian sand dunes. *Mycosphere*, 6, 260-265.
- Wartchow, F., Tulloss, R. E., & Cavalcanti, M. A. Q. (2009). *Amanita lippiae*: a new species from the semi-arid caatinga region of Brazil. *Mycologia*, 101(6), 864-870.
- Weiß, M., Yang, Z. L., & Oberwinkler, F. (1998). Molecular phylogenetic studies in the genus *Amanita*. *Canadian Journal of Botany*, 76(7), 1170-1179.
- Yang, Z. L. (1997). Die *Amanita*-Arten von Südwestchina.

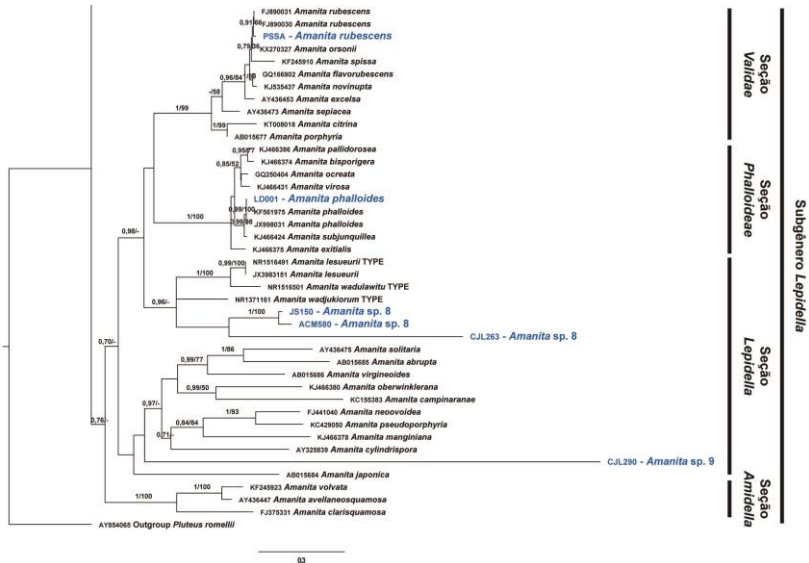
## ANEXOS



**Anexo 1.** Filogenia de representantes de *Amanita* seção *Vaginatae* inferida a partir da região LSU com topologia de análise de Máxima Verossimilhança. Os valores de bootstrap acima de 50% são mostrados antes da barra e os valores de Probabilidade Posterior acima de 70% são mostrados depois da barra. Nomes coloridos em negrito são de sequências oriundas deste trabalho.







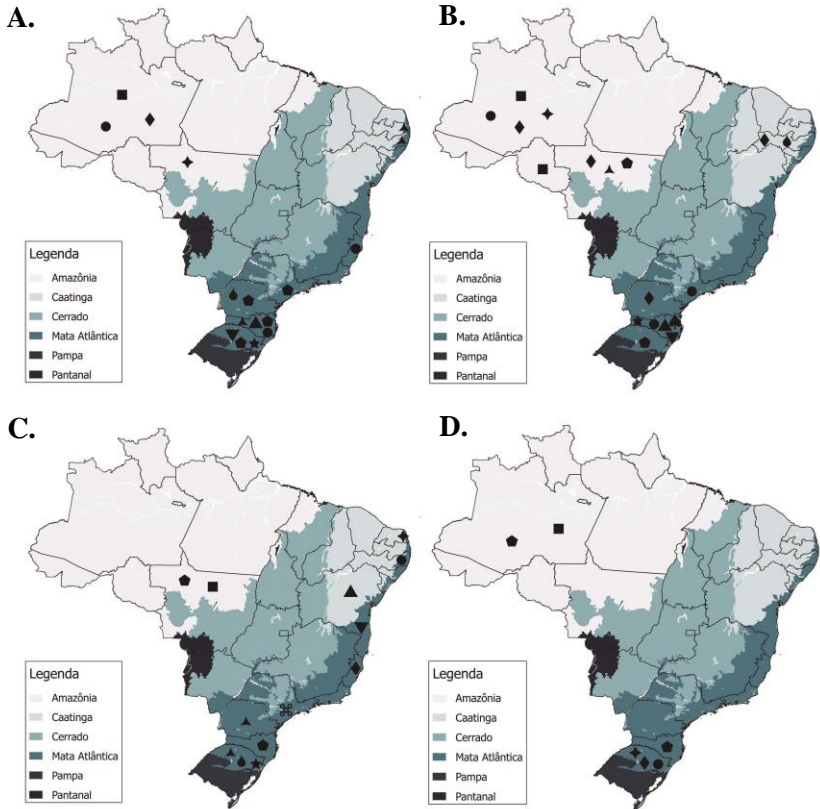
**Anexo 24. Continuação.** Filogenia de representantes de *Amanita* e suas seções correspondentes inferida a partir da região ITS com topologia de análise de Máxima Verossimilhança. Os valores de bootstrap acima de 50% são mostrados antes da barra e os valores de Probabilidade Posterior acima de 70% são mostrados depois da barra. Nomes em azul correspondem a seqüências oriundas deste trabalho.

**Anexo 3.** Checklist de espécies de *Amanita* registradas para o Brasil.  
Referências utilizando a primeira citação da espécie para o estado.

	ESPÉCIE	ESTADO	REFERÊNCIA
Subgênero <i>Amanita</i>			
Seção <i>Amanita</i>			
	<i>Amanita aliena</i> Wartchow & Cortez	RS	Wartchow & Cortez 2016
	<i>Amanita chrysoleuca</i> Pegler	PR	Meijer 2006
	<i>Amanita lanivolvula</i> Bas	AM, ES, SC	Bas 1978; *, *
	<i>Amanita muscaria</i> (L.) Lam.	PR; RS; SC; SP	Meijer 2001; Homrich 1965; Giachini et al. 2000; Fosco-Mucci & Yokomizo 1985
	<i>Amanita pantherina</i> (DC.) Krombh.	SC	Giachini et al. 2000
	<i>Amanita petalinovolvula</i> Wartchow [as ' <i>petalinovolvula</i> ']	RS	Wartchow et al. 2012
	<i>Amanita sulcatissima</i> Bas	AM	Bas 1978
	<i>Amanita viscidolutea</i> Menolli, Capelari & Baseia	PB; RN; SC	Wartchow et al. 2012; Menolli et al. 2009; *
	<i>Amanita xerocybe</i> Bas	AM	Bas 1978
	<i>Amanita</i> sp. 7	MT	*
Subgênero <i>Amanita</i>			
Seção <i>Vaginatae</i>			
	<i>Amanita coacta</i> Bas	AM; SC; SP	Bas 1978; *, Grandi et al. 1984 (como <i>A. crebresulcata</i> Bas)
	<i>Amanita craseoderma</i> Bas	AM; RO	Bas 1978; Capelari & Maziero 1988
	<i>Amanita crebresulcata</i> Bas	AM; MT; PB; PE; PR	Bas 1978; *, Magnago et al. 2015; Wartchow & Maia 2007; Meijer 2006;
	<i>Amanita lippiae</i> Wartchow & Tulloss	PB	Wartchow et al. 2009
	<i>Amanita tenacipulvis</i> Wartchow	AM	Wartchow 2015
	<i>Amanita</i> sp. 1	SC	*
	<i>Amanita</i> sp. 2	SC	*
	<i>Amanita</i> sp. 3	MT	*
	<i>Amanita</i> sp. 4	SC	*
	<i>Amanita</i> sp. 5	SC	*
	<i>Amanita</i> sp. 6	MT; RS	*, *
Subgênero <i>Lepidella</i>			
Seção <i>Lepidella</i>			
	<i>Amanita ameghinoides</i> (Speg.) Singer	SP	Pegler 1997

<i>Amanita aureofloccosa</i> Bas #	RS	Wartchow et al. 2015
<i>Amanita dulciodora</i> C.C.Nascimento, Sá & Wartchow	BA	Nascimento et al. 2018
<i>Amanita grallipes</i> Bas & de Meijer	PR; RS	Meijer 2006; Rick 1906 (como <i>A. spissa</i> var. <i>laeta</i> )
<i>Amanita lilloi</i> Singer	PE	Wartchow et al. 2007
<i>Amanita psammolimbata</i> Wartchow & Sulzbacher	RN	Wartchow et al. 2015
<i>Amanita strobiliformis</i> (Paulet ex Vittad.) Bertill.	RS	Rick 1930
<i>Amanita viridissima</i> Wartchow	BA	Wartchow 2016
<i>Amanita</i> sp. 8	MT; SC	*, *
<i>Amanita</i> sp. 9	MT	*
<i>Amanita</i> sp. 10	ES	*
Subgênero <i>Lepidella</i> Seção <i>Phalloidea</i> e		
<i>Amanita phalloides</i> (Vaill. ex Fr.) Link	RS	*
Subgênero <i>Lepidella</i> Seção <i>Validae</i>		
<i>Amanita campinaranae</i> Bas	AM; SC	Bas 1978; *
<i>Amanita excelsa</i> (Fr.) Bertill. como <i>A. spissa</i> (Fr.) P. Kumm.	RS	Rick 1906
<i>Amanita phaea</i> Bas	AM	Bas 1978
<i>Amanita rubescens</i> Pers.	RS	Sobestiansky 2005

\* Materiais oriundos deste trabalho. # Material necessita de revisão.



**Anexo 4.** Mapa das espécies das seções de *Amanita* por estado e domínios vegetacionais. **A.** Espécies de *Amanita* subgênero *Amanita* seção *Amanita*: ★ *Amanita aliena*; ◆ *A. chrysoleuca*; ● *A. lanivolvae*; ◆ *A. muscaria*; ▲ *A. pantherina*; ▼ *A. petalinovolvae*; ◆ *A. sulcatissima*; ▲ *A. viscidolutea*; ■ *A. xerocybe*; ◆ *A. sp. 7*. **B.** Espécies de *Amanita* subgênero *Amanita* seção *Vaginatae*: ● *Amanita coacta*; ■ *A. craseoderma*; ◆ *A. crebresulcata*; ◆ *A. lippiae*; ◆ *A. tenacipulvis*; ▲ *A. sp. 1*; ★ *A. sp. 2*; ▲ *A. sp. 3*; ▼ *A. sp. 4*; ▲ *A. sp. 5*; ◆ *A. sp. 6*. **C.** Espécies de *Amanita* subgênero *Lepidella* seção *Lepidella*: ☼ *Amanita ameghinoi*; ◆ *A. aureofloccosa*; ▼ *A. dulciadora*; ▲ *A. grallipes*; ● *A. lilloi*; ◆ *A. psammolimbata*; ★ *A. strobiliformis*; ▲ *A. viridissima*; ◆ *A. sp. 8*; ■ *A. sp. 9*; ◆ *A. sp. 10*. **D.** Espécies de *Amanita* subgênero *Lepidella* seção *Validae*: ◆ *Amanita campinaranae*; ◆ *A. excelsa*; ■ *A. phaea*; ● *A. rubescens*; Espécie de *Amanita* subgênero *Lepidella* seção *Phalloideae*: ◆ *Amanita phalloides*.

