

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BOTÂNICA

PROJETO DE TESE DE DOUTORADO

Estudos de fungos gasteróides na região sul do Brasil

Larissa Trierveiler Pereira

Programa de Pós-Graduação em Botânica – UFRGS

Orientadora: **Dra. Rosa Mara Borges da Silveira**

Departamento de Botânica – UFRGS

Coorientador: **Dr. Kentaro Hosaka**

National Museum of Nature and Science (TNS) – Japão

1. Introdução

Os fungos gasteróides (Agaricomycetes) são caracterizados principalmente por possuírem o himênio fechado durante a maturação completa dos basidiosporos e a incapacidade de liberá-los ativamente. Estes fungos recebem este nome devido à forma do desenvolvimento angiocárpico do basidioma (Alexopoulos *et al.*, 1996; Miller & Miller, 1988).

O ponto de partida para a nomenclatura de fungos gasteróides é a obra *Synopsis methodica fungorum* de Persoon (1801). Neste trabalho, o autor classificou as espécies fúngicas em duas classes: *Angiocarpi* e *Gimnocarpi*. Em *Angiocarpi*, Persoon reuniu todas as espécies de fungos com frutificações fechadas onde os esporos são gerados internamente. Tratava-se de uma classe bastante artificial, e incluía membros de basidiomicetos, ascomicetos, zigomicetos e mixomicetos. As espécies de basidiomicetos com hábito gasteróide foram incluídas na ordem *Dermatocarpi*, juntamente com os mixomicetos.

Fries (1821) seguiu a proposta de Persoon e em sua obra *Systema mycologicum* e criou a classe *Gasteromycetes* para agrupar os fungos angiocárpicos. Após o trabalho de Fries, anos se passaram até que o termo *Gasteromycetes* se aplicasse apenas para os basidiomicetos angiocárpicos. Segundo Cunningham (1944), a adoção dessa circunscrição ocorreu somente no final do século XIX.

Durante o século XX, muitos autores adotaram o nome da classe cunhado por Fries em seus trabalhos e monografias para estudos de basidiomicetos angiocárpicos, e.g. Lloyd (1902), Coker & Couch (1928), Cunningham (1944), Bottomley (1948), Demoulin (1969), Dring (1964), Liu (1984), Miller & Miller (1988) e Calonge (1998).

Entretanto, desde o início do século XX a monofilia de *Gasteromycetes* foi questionada devido a evidências morfológicas e químicas (Reijnder, 2000). Atualmente, sabe-se que o agrupamento dos basidiomicetos gasteróides em *Gasteromycetes* é artificial e a polifilia da classe é embasada em características morfológicas e moleculares (Thiers, 1984; Hibbett *et al.*, 1997). A sistemática do grupo sofreu profundas mudanças durante os últimos anos devido aos avanços das técnicas moleculares, e atualmente as espécies de fungos gasteróides se encontram distribuídas em diferentes grupos taxonômicos. Dentre as dezessete ordens da classe *Agaricomycetes*, oito delas (*Agaricales* Underw., *Boletales* E.-J. Gilbert, *Polyporales* Gäum., *Russulales* Kreisel ex P.M. Kirk, *Geastrales* K. Hosaka & Castellano, *Gomphales* Jülich, *Hysterangiales* K. Hosaka & Castellano e *Phallales* E. Fisch.) incluem espécies que produzem basidioma gasteróide (Kirk *et al.*, 2008).

Apesar dos registros de espécies de gasteromicetos no Brasil datarem do final do século XIX, foi apenas em meados do século XX que cientistas brasileiros começaram a contribuir para o conhecimento do grupo nesse país. Segundo Trierveiler-Pereira & Baseia (2009), atualmente 232 espécies de fungos gasteróides são registradas para o Brasil. Na Região Sul, cerca de 205 espécies são conhecidas. Contribuições recentes para o conhecimento de fungos gasteróides na Região Sul são os trabalhos de Giachini *et al.* (2000), Cortez *et al.* (2008a, 2008b, 2009, 2010, 2011a, 2011b), Trierveiler-Pereira *et al.* (2009), Loguercio-Leite *et al.* (2009) e Sulzbacher *et al.*

(2010). Estes trabalhos tratam exclusivamente da taxonomia clássica do grupo ou inventários de diversidade. Estudos moleculares de fungos gasteróides ainda são inexistentes no Brasil.

2. Justificativa

O conhecimento sobre os fungos gasteróides nas regiões tropicais e subtropicais do Hemisfério Sul ainda é limitado, havendo escassez de dados acerca da diversidade e distribuição dos mesmos. Também são poucas as chaves de identificação confiáveis para identificação de espécies que ocorrem nestas regiões. Os principais trabalhos publicados (e.g. Möller, 1895; Dissing & Lange, 1962; Dring, 1964; Ponce de Leon, 1968; Calonge & Verde 1996; Calonge *et al.*, 2004) são da autoria de pesquisadores residentes em regiões temperadas. Dessa maneira, torna-se necessário a realização de levantamentos completos acerca do grupo, preocupando-se com a formação de especialistas no Hemisfério Sul.

A taxonomia dos fungos gasteróides é bastante complexa e a delimitação de táxons é muitas vezes baseada em características macroscópicas, que podem variar de acordo com condições ambientais. Devido às variações ambientais, falta de estudos detalhados e comparação com materiais de herbário, muitos nomes de espécies correspondem a sinónimas. Questões taxonômicas complexas têm sido em várias ocasiões resolvidas com o auxílio de ferramentas moleculares (Douanla-Meli *et al.*, 2005; Zhao *et al.*, 2007; Larsson & Jeppson, 2008; Hosaka & Castellano, 2008; Hosaka *et al.*, 2008; Bates *et al.*, 2009; Hosaka, 2009; Larsson *et al.*, 2009; Giachini *et al.*, 2010).

Os estudos filogenéticos de fungos gasteróides vêm causando profundas modificações na sistemática do grupo desde o final do século passado, e os principais trabalhos (Hibbett & Donoghue, 1995; Hibbett *et al.*, 1997; Hibbett & Thorn, 2001; Humpert *et al.*, 2001; Miller *et al.*, 2001; Hosaka *et al.*, 2006) incluem poucas sequências de espécies tropicais e subtropicais da América do Sul. Dessa maneira, a inclusão de sequências de espécies tropicais e subtropicais resultantes deste trabalho pode contribuir significativamente para a filogenia do grupo.

No presente projeto é proposta a realização de um estudo taxonômico, aliando as análises filogenéticas moleculares aos estudos morfológicos clássicos, com a finalidade de elucidar a delimitação de táxons de fungos gasteróides e ampliar o conhecimento da história evolutiva deste grupo.

3. Objetivos

O principal objetivo deste trabalho é ampliar o conhecimento sobre fungos gasteróides na Região Sul do Brasil (e conseqüentemente, na região tropical e subtropical da América do Sul), além de contribuir para a filogenia do grupo. Os objetivos específicos deste trabalho são os seguintes:

- Conhecer as espécies de fungos gasteróides que ocorrem na Região Sul do Brasil;
- Definir quais são as características morfológicas importantes para a circunscrição de táxons e se necessário, propor novas características;

- ▶ Verificar se é válida a atual delimitação dos táxons do grupo;
- ▶ Compreender quais são as relações filogenéticas entre as espécies estudadas;
- ▶ Contribuir para a filogenia e história evolutiva do grupo com as sequências das espécies estudadas.

4. Metodologia

4.1. Coletas

Para a realização deste estudo, basidiomas de fungos gasteróides serão coletados nas diferentes formações vegetais que abrangem os três estados da Região Sul do Brasil: Paraná, Rio Grande do Sul e Santa Catarina, preferencialmente em áreas bem conservadas ou Unidades de Conservação.

Todos os substratos propícios ao surgimento de fungos gasteróides (solo, serrapilheira e madeira decomposta) serão observados e os espécimes encontrados serão coletados com auxílio de um canivete. Para os estudos moleculares, pequenas porções do basidioma (aproximadamente 0,125 cm³) serão retiradas com auxílio de lâmina de aço estéril e serão armazenados em tubos de microcentrífuga (tipo Eppendorf®) estéreis de 2 mL contendo sílica gel. Após a desidratação das amostras, a sílica será trocada e os microtubos serão mantidos em freezer (-20 °C) até a etapa de extração do DNA fúngico.

Para o transporte do campo até o laboratório, os basidiomas serão acondicionados em caixas plásticas com compartimentos individualizados (Lodge *et al.*, 2004).

4.2. Caracterização morfológica

Os espécimes serão primeiramente avaliados no campo, com auxílio de uma lupa de mão (aumento de 20X), quanto às certas características macroscópicas. Também serão feitas medições dos basidiomas, além de anotações quanto ao hábito. Em laboratório, com auxílio de microscópio estereoscópico, serão verificadas as características importantes para a delimitação de táxons. As cores serão determinadas de acordo com o guia de cores de Kernerup & Wanscher (1978). Toda alteração quanto às características macroscópicas após a herborização do material serão também anotadas.

Para a análise microscópica do material, pequenas porções da gleba ou do perídio serão retiradas do basidioma e montadas entre lâmina e lamínula com hidróxido de potássio (KOH), reagente de Melzer ou azul de algodão (Miller & Miller, 1988).

As microestruturas (hifas, capilício, basídios, basidiosporos, etc.) serão analisadas quanto à forma, dimensões, tipo de ornamentação e coloração. As medidas serão efetuadas, sempre que possível, a partir de 20 unidades de cada microestrutura, com o auxílio de uma ocular com régua micrometrada, em aumento de 1000X. Os desenhos das estruturas microscópicas serão feitos com o auxílio de uma câmera clara acoplada ao microscópio.

Serão revisados os principais herbários com coleções micológicas da Região Sul (ICN, PACA, HUCCS, FLOR e MBM), com a finalidade de aumentar o conhecimento acerca da ocorrência e distribuição das espécies. Revisão e análise de tipos nomenclaturais de espécies e dos gêneros encontrados na área de estudo serão realizadas, a fim de confirmar a correta determinação dos espécimes e verificar a identidade das espécies. Dessa maneira, serão também solicitados empréstimos de materiais de herbários estrangeiros onde se encontram depositados tipos brasileiros (e.g. BPI, P, GB, K, BAFC).

Os espécimes coletados serão identificados com a utilização de chaves dicotômicas e descrições detalhadas, bem como por comparação com materiais previamente estudados por outros autores.

4.3. Caracterização molecular e filogenia

A extração do material genético será feita a partir de fragmentos do basidioma preservados em tubos de microcentrífuga contendo sílica gel. O protocolo de extração será de acordo com o utilizado por Bates *et al.* (2009).

As sequências de DNA serão obtidas de cinco *loci* independentes, sendo três destes nucleares (nucLSU-rDNA, *rpb2* e *ef-1α*) e dois mitocondriais (mtSSU-rDNA e *atp6*). Os protocolos de amplificação do DNA e os *primers* que serão utilizados serão aqueles descritos no site *Assembling Fungal Tree of Life* (<http://aftol.org/primers.php>).

A amplificação das regiões de interesse será realizada com a técnica de PCR (reação em cadeia de polimerase) utilizando-se um termociclador. A purificação dos fragmentos de DNA amplificados será feita segundo o protocolo adotado por Binder & Hibbett (2003). Posteriormente os fragmentos serão sequenciados utilizando-se um sequenciador automático.

As sequências obtidas serão primeiramente testadas no GenBank (www.ncbi.nlm.nih.gov/ Genbank) utilizando-se a ferramenta BLAST (*Basic Local Alignment Search Tool*). Essa ferramenta irá detectar similaridades fracas de sequências e dessa maneira, as sequências duvidosas, i.e. que não pertencem ao grupo de fungos gasteróides, serão eliminadas da análise.

Posteriormente, as sequências serão alinhadas por meio do algoritmo ClustalX (Thompson *et al.*, 1997). Os alinhamentos gerados pelo programa serão então lidos no programa BioEdit (Hall, 1999) para inspeção visual dos alinhamentos em busca de possíveis erros, assim como para a codificação de inserções e deleções. Os erros encontrados serão corrigidos manualmente.

Árvores filogenéticas baseadas nas hipóteses de relação propostas serão geradas com base nas sequências obtidas neste estudo. Também serão incluídas sequências de outras espécies de fungos gasteróides obtidas no GenBank e de outros estudos do coorientador deste trabalho.

As análises filogenéticas serão feitas para os cinco *loci* concatenados utilizando-se critérios de máxima parcimônia e inferência bayesiana. O programa MODELTEST (Posada & Crandall, 1998) será utilizado para determinar qual modelo de evolução melhor se ajusta aos dados obtidos.

As análises de máxima parcimônia serão realizadas utilizando o programa PAUP*4.0b10 (Swofford, 2002) com opção de busca heurística, utilizando o algoritmo TBR e com a opção MULTREES ativada, 1000 réplicas com adição aleatória de sequência. O suporte dos nós será verificado com *bootstrap* para 1000 réplicas, com opção de busca heurística, sem o uso do algoritmo TBR e a opção MULTREES desativada.

A análise bayesiana será conduzida no programa MrBayes ver.3.0b4 (Huelsenbeck & Ronquist 2001), com 10.000.000 de gerações de MCMCMC, armazenando-se uma árvore a cada 1000. O suporte dos nós será testado por probabilidades posteriores obtidas pela regra da maioria após deleção das árvores dos estados iniciais (*burn-in* 10%).

Gêneros de *Russulales* Kreisel ex P.M. Kirk *et al.*, como *Russula* Pers. e *Bondarzewia* Singer, serão adotados como grupos externos, tendo esses gêneros sido adotados como grupo externo em trabalhos anteriores de biologia molecular de fungos gasteróides (Hughey *et al.*, 2000; Giachini, 2004; Hosaka *et al.*, 2006).

Ao final do estudo, as sequências obtidas serão remetidas ao GenBank e as árvores geradas serão depositados no banco de dados do TreeBASE (<http://www.treebase.org>).

5. Cronograma do projeto de tese

2010	Abr	Mai	Jun	Jul	Ago	Set	Out	Nov	Dez
Obtenção dos créditos PPG	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Proficiência língua estrangeira		X							
Excursões e coletas	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Revisão de herbários					X	X	X	X	X
Análise morfológica	X	X	X	X	X	X	X	X	X

2011	Jan	Fev	Mar	Abr	Mai	Jun	Jul	Ago	Set	Out	Nov	Dez
Obtenção dos créditos PPG	X	X	X	X	X	X						
Excursões e coletas	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Revisão de herbários	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Análise morfológica	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Participação em congresso							X					

2012	Jan	Fev	Mar	Abr	Mai	Jun	Jul	Ago	Set	Out	Nov	Dez
Excursões e coletas	X	X	X									
Estágio no exterior					X	X	X	X	X	X		
Redação de artigos									X	X	X	X

2013	Jan	Fev	Mar	Abr	Mai	Jun	Jul	Ago	Set	Out	Nov	Dez
Análise geral dos dados	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Qualificação		X										
Redação de artigos	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X

2014	Jan	Fev	Mar
Redação dos artigos	X	X	
Entrega da tese		X	
Defesa da tese			X

6. Plano de trabalho e cronograma de atividades no exterior

Durante o estágio no exterior, as principais etapas a serem realizadas são as análises moleculares e filogenéticas. Estas etapas serão realizadas na instituição do coorientador que dispõe de infraestrutura necessária para a realização de tais estudos, além de financiamento do governo japonês para etapas com maior custo. A instituição também tem licença dos programas filogenéticos que serão utilizados nesse estudo.

Além disso, em função da metodologia proposta, as análises moleculares são de fundamental importância para o cumprimento dos objetivos propostos neste projeto. A meta principal da tese é utilizar estudos moleculares para contribuir com a circunscrição de táxons e filogenia do grupo de estudo. Somente sob a supervisão e orientação de um pesquisador que conheça bem o grupo e saiba interpretar corretamente os dados obtidos isto será possível. A etapa de estudos moleculares neste trabalho irá garantir que a aluna publique resultados de sua tese em revistas de alto fator de impacto. A não realização desta abordagem irá resultar na publicação de artigos com análises puramente morfológicas, o que implicará em publicações em revistas com índices de avaliação menores.

Também será feita revisão de materiais depositados no herbário da instituição enquanto a aluna estiver no exterior. Dessa maneira, ela poderá se familiarizar com espécies que não ocorrem no Brasil e nas regiões tropicais, podendo assim compará-los com materiais de sua tese.

Atualmente, não há no Brasil pesquisadores qualificados para conduzir projetos de pesquisa na área de sistemática molecular de gasteromicetos, sendo fundamental, neste momento de crescimento científico do país, formar pesquisadores capacitados para atuar na referida área. A previsão de estágio no exterior da aluna é de maio de 2012 a outubro de 2012 (seis meses).

6.1. Cronograma de atividades no exterior

Atividade	Mai	Jun	Jul	Ago	Set	Out
Extração de DNA	X	X	X			
Amplificação dos genes	X	X	X	X		
Sequenciamento			X	X	X	
Análise de dados				X	X	X
Revisão de materiais de herbário	X	X	X	X	X	X
Redação de artigos					X	X

7. Orçamento

Material de consumo	Quantidade	Valor Unitário	Total
Análises moleculares	300 amostras	R\$ 60,00 por amostra	R\$ 18.000,00
Excursões de coleta	90 diárias*	R\$ 187,83	R\$ 16.904,70
TOTAL			R\$ 34.904,70

*os valores das diárias serão utilizados para custear combustível e diárias de motoristas.

8. Financiamento

Este projeto conta parcialmente com recursos do projeto: “Estudos taxonômicos de Agaricomycetes (Basidiomycota, Fungi) na Região Sul do Brasil”, aprovado pelo edital MCT/CNPq/MEC/CAPES Nº 52/2010 – PROTAX. Também serão utilizados recursos financeiros obtidos pelo coorientador (Dr. Kentaro Hosaka), assim como sua estrutura laboratorial (National Museum of Nature and Science – Japão) para a etapa de estudos moleculares.

9. Referências Bibliográficas

- Alexopoulos, C., Mims, C., Blackwell, M. 1996. *Introductory mycology*. 4th edition. New York, Wiley & Sons.
- Bates, S.T., Roberson, R.W., Desjardin, D.E. 2009. Arizona gasteroid fungi I: *Lycoperdaceae* (Agaricales, Basidiomycota). *Fungal Diversity* 37: 153-207.
- Binder, M. & Hibbett, D.S. 2003. *Hibbett lab protocols for DNA isolation, PCR, and DNA sequencing*. Disponível em: <http://www.clarku.edu/faculty/dhibbett/Protocols_Folder/Lab_protocols.pdf>, Acesso em: 25 jan. 2011.
- Bottomley, A.M. 1948. *Gasteromycetes* of South Africa. *Bothalia* 4: 473-810.
- Calonge, F.D. 1998. *Gasteromycetes*. I. *Lycoperdales, Nidulariales, Phallales, Sclerodermatales, Tulostomatales*. *Flora Mycologica Iberica*. 3: 1-271.
- Calonge, F.D., Verde, L. 1996. Nuevos datos sobre los Gasteromycetes de Venezuela. *Boletín de la Sociedad Micológica de Madrid* 21: 201-217.
- Calonge, F.D., Guzmán, G., Ramírez-Guillén, F. 2004. Observaciones sobre los gasteromycetes de México depositados en los herbarios XAL y XALU. *Boletín de la Sociedad Micológica de Madrid* 28: 337-371.
- Coker, W.C., Couch, J.N. 1928. *The Gasteromycetes of the Eastern United States and Canada*. New York, Dover.
- Cortez, V.G., Baseia, I.G., Silveira, R.M.B. 2008a. Gasteromicetos (*Basidiomycota*) no Parque Estadual de Itapuã, Viamão, Rio Grande do Sul, Brasil. *Revista Brasileira de Biociências, Porto Alegre* 6(3): 291-299.

- Cortez, V.G., Baseia, I.G., Silveira, R.M.B. 2009. Gasteroid mycobiota of Rio Grande do Sul, Brazil: *Tulostomataceae*. *Mycotaxon* 108: 365-384.
- Cortez, V.G., Baseia, I.G., Silveira, R.M.B. 2010. Gasteroid mycobiota of Rio Grande do Sul, Brazil: *Arachnion* and *Disciseda* (*Lycoperdaceae*). *Acta Biologica Paranaense* 39: 19-27.
- Cortez, V.G., Baseia, I.G., Silveira, R.M.B. 2011a. Gasteroid mycobiota of Rio Grande do Sul, Brazil: *Boletales*. *Journal of Yeast and Fungal Research* 2: 44-52.
- Cortez, V.G., Baseia, I.G., Silveira, R.M.B. 2011b. Gasteroid mycobiota of Rio Grande do Sul, Brazil: *Lysuraceae* (*Basidiomycota*). *Acta Scientiarum. Biological Sciences* 33: 87-92.
- Cortez, V.G., Sulzbacher, M.A., Baseia, I.G., Silveira, R.M.B. 2008b. Two little known gasteroid fungi from Santa Catarina State, southern Brazil. *Mycotaxon* 106: 297-302.
- Cunningham, G.H. 1944. *The Gasteromycetes of Australia and New Zealand*. Dunedin, John McIndoe.
- Demoulin, V. 1969. Les gastéromycètes. Introduction a l'étude des *Gasteromycetes* de Belgique. *Les Naturalists Belges* 50: 225-270.
- Dissing, H., Lange, M. 1962. *Gasteromycetes* of Congo. *Bulletin du Jardin botanique de l'État a Bruxelles* 32(4): 325-416.
- Douanla-Meli, C., Langer, E., Calonge, F.D. 2005. *Geastrum pleosporus* sp. nov., a new species of *Geastraceae* identified by morphological and molecular phylogenetic data. *Mycological Progress* 4(3): 239-250.
- Dring, D.M. 1964. *Gasteromycetes* of West Tropical Africa. *Mycological Papers* 98: 1-60.
- Fries, E.M. 1821. *Systema mycologicum, volume 1*. Lund & Greifswald, Ex. Officina Berlingiana.
- Giachini, A.J. 2004. *Systematics, phylogeny and ecology of Gomphus sensu lato*. Doctoral Dissertation, Oregon State University, U.S.A.
- Giachini, A.J., Hosaka, K., Nouhra, E., Spatafora, J., Trappe, J.M. 2010. Phylogenetic relationships of the Gomphales based on nuc-25S-rDNA, mit-12S-rDNA, and mit-atp6-DNA combined sequences. *Fungal Biology* 114: 224-234.
- Giachini, A.J., Oliveira, V.L., Castellano, M.A., Trappe, J.M. 2000. Ectomycorrhizal fungi in *Eucalyptus* and *Pinus* plantations in Southern Brazil. *Mycologia* 92(6): 1166-1177.
- Hall TA. 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium Series* 41: 95-98.
- Hibbett, D.S., Donoghue, M.J. 1995. Progress toward a phylogenetic classification of the *Polyporaceae* through parsimony analyses of mitochondrial ribosomal DNA sequences. *Canadian Journal of Botany* 73(Suppl. 1): S853-S861.
- Hibbett, D.S., Pine, E.M., Langer, E., Langer, G., Donoghue, M.J. 1997. Evolution of gilled mushrooms and puffballs inferred from ribosomal DNA sequences. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 94: 12002-12006.
- Hibbett, D.S., Thorn, R.G.. 2001. *Basidiomycota: Homobasidiomycetes*. In: McLaughlin, D.J., McLaughlin, E.G., Lemke, P.A. *Systematics and Evolution*, VIIB. Berlin, Springer-Verlag, pp. 123-168.
- Hosaka, K. 2009. Phylogeography of the genus *Pisolithus* revisited with some additional taxa from New Caledonia and Japan. *Bulletin of National Museum of Nature and Science* 35: 151-167.
- Hosaka, K., Bates, S.T., Castellano, M.A., Colgan, M., Dominguez, L.S., Nouhra, E.R., Geml, Giachini, A., Kenney, S.R., Simpson, N.B., Spatafora, J.W., Trappe, J.M. 2006. Molecular phylogenetics of the gomphoid-phalloid fungi with an establishment of the new subclass *Phallomycetidae* and two new orders. *Mycologia* 98(6): 949-959.
- Hosaka, K., Castellano, M.A. 2008. Molecular phylogenetics of *Geastrales* with special emphasis on the position of *Sclerogaster*. *Bulletin of National Museum of Nature and Science* 34: 161-173.
- Hosaka, K., Castellano, M.A., Spatafora, J.W. 2008. Biogeography of Hysterangiales (Phallomycetidae, Basidiomycota). *Mycological Research* 112: 448-462.
- Huelsenbeck, J.P., Ronquist, F. 2001. MrBayes: Bayesian inference of phylogenetic trees. *Bioinformatics* 17: 754-755.
- Hughey, B.D., Adams, G.C., Bruns, T.D., Hibbett, D.S. 2000. Phylogeny of *Calostoma*, the gelatinous-stalked puffball, based on nuclear and mitochondrial ribosomal DNA sequences. *Mycologia* 92(1): 94-104.

- Humpert, A.J., Muench, E.L., Giachini, A.J., Castellano, M.A., Spatafora, J.W. 2001. Molecular phylogenetics of *Ramaria* and related genera: evidence from nuclear large subunit and mitochondrial small subunit rDNA sequences. *Mycologia* 93: 465-477.
- Kirk PM, Cannon PF, Minter DW, Stalpers JA. 2008. *Dictionary of the Fungi*. 10th edition. Wallingford, CABI International.
- Kornerup, A., Wanscher, J.H. 1978. *Methuen Handbook of Colours*. 3rd edition. London, Eyre Methuen.
- Larsson, E., Jeppson, M. 2008. Phylogenetic relationships among species and genera of *Lycoperdaceae* based on ITS and LSU sequence data from north European taxa. *Mycological Research* 112: 4-22.
- Larsson, E. Jeppson, M., Larsson KH. 2009. Taxonomy, ecology and phylogenetic relationships of *Bovista pusilla* and *B. limosa* in North Europe. *Mycological Progress* 8(4): 289-299.
- Liu, B. 1984. The *Gasteromycetes* of China. *Beihefte zur Nova Hedwigia* 76: 1-135.
- Lloyd, C.G. 1902. *The genera of Gastromycetes*. Cincinnati, Mycological Writings.
- Lodge, D.J., Ammirati, J.A., O'Dell, T.E., Mueller, G.M., Huhndorf, S.M., Wang, C.J., Stokland, J.N., Schmit, J.P., Ryvarden, L., Leacock, P.R., Mata, M., Umaña, L., Wu, Q., Czederpiltz, D.L. 2004. Terrestrial and lignicolous macrofungi. In: Mueller, G.M., Bills, G.F., Foster, M.S. (eds.) *Biodiversity of fungi. Inventory and monitoring methods*. Boston, Elsevier Academic Press, pp. 127-172.
- Loguercio-Leite, C., Santana, M.C., Gerlach, A., Gutjahr, M., Trierveiler-Pereira, L., Drechsler-Santos, E.R., Baltazar, J.M. 2009. Résumé of macromycetes from Santa Catarina State, Southern Brazil. *Insula* 38: 1-14.
- Miller, Jr. O.K., Miller, H.H. 1988. *Gasteromycetes: morphology and developmental features*. Eureka, Mad River.
- Miller, S.L., McClean, T.M., Walker, J.F., Buyck, B. 2001. A molecular phylogeny of the *Russulales* including agaricoid, gasteroid and pleurotoid taxa. *Mycologia* 93: 344-354.
- Möller, A. 1895. Brasilische Pilzblumen. *Botanische Mitteilungen aus den Tropen* 7: 1-152.
- Persoon, C.H. (1801). *Synopsis Methodica Fungorum*. Gottingae, Germany.
- Ponce de Leon, P. 1968. A revision of the *Geastraceae*. *Fieldiana, Botany* 31: 303-349.
- Posada, D., Crandall, K.A. 1998. Modeltest: testing the model of DNA substitution. *Bioinformatics* 14: 817-818.
- Reijnders, A. F. M. 2000. A morphogenetic analysis of the basic characters of the gasteromycetes and their relation to other hymenomycetes. *Mycological Research* 104 (8): 900-910.
- Sulzbacher, M.A., Cortez, V.G., Coelho, G., Jacques, R.J.S., Antonioli, Z.I. 2010. *Chondrogaster pachysporus* in a *Eucalyptus* plantation of southern Brazil. *Mycotaxon* 113: 377-384.
- Swofford, D.L. 2002. *PAUP*: phylogenetic analysis using parsimony (*and other methods)*. Version 4.0. Sunderland, Sinauer Associates.
- Thiers, H.D. 1984. The secotioid syndrome. *Mycologia* 76(1): 1-8.
- Thompson, J.D., Gibson, T.J., Plewniak, F., Jeanmougin, F, Higgins, D.G., 1997. The CLUSTALX windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tool. *Nucleic Acids Research* 24: 4876-4882.
- Trierveiler-Pereira, L., Baseia, I.G. 2009. A checklist of the Brazilian gasteroid fungi (*Basidiomycota*). *Mycotaxon* 108: 441-444.
- Trierveiler-Pereira, L., Loguercio-Leite, C., Calonge, F.D., Baseia, I.G. 2009. An emendation of *Phallus glutinolens*. *Mycological Progress* 8(4): 337-380.
- Zhao, R.L., Jeewon, R., Desjardin, D.E., Soyong, K., Hyde, K.D. 2007. Ribosomal DNA phylogenies of *Cyathus*: Is the current infrageneric classification appropriate? *Mycologia* 99(3): 385-395.