

Universidade Federal de Santa Catarina - UFSC
Centro de Ciências Biológicas - CCB
Departamento de Botânica
Programa de Pós Graduação em Biologia de Fungos, Algas e Plantas - PPGFAP

PROJETO DE DISSERTAÇÃO

Mestrando: Samuel Galvão Elias

Orientador: Prof. Doutor Elisandro Ricardo Drechsler dos Santos

Coorientadora: Dra. Denise Olkoski

Assinaturas



Mestrando



Orientador

Florianópolis, SC, Julho de 2015

SUMÁRIO

1	JUSTIFICATIVA E ANTECEDENTES.....	3
1.1	HISTÓRICO DE <i>Phellinus piptadeniae</i> TEIXEIRA.....	3
1.2	FILOGEOGRAFIA COMO FERRAMENTA PARA ESTUDO DE <i>Phellinus piptadeniae</i> s.s.	5
2	PERGUNTA DA PESQUISA E HIPÓTESES A SEREM TESTADAS.....	8
3	OBJETIVOS	8
3.1	OBJETIVO GERAL	8
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	8
4	METODOLOGIA.....	9
4.1	SELEÇÃO DAS ÁREAS DE AMOSTRAGEM.....	9
4.2	TÉCNICAS DE COLETA	10
4.3	ANÁLISES MOLECULARES	11
4.3.1	Extração de material genético	11
4.3.2	Amplificação e sequenciamento.....	11
4.3.3	Curadoria dos dados.....	11
4.4	ANÁLISES ESTATÍSTICAS	12
4.4.1	Análise genética das populações	12
4.4.2	Análises espaciais	12
5	RESULTADOS ESPERADOS	12
6	CRONOGRAMA.....	14
6.1	FÍSICO	14
6.2	FINANCEIRO	15
7	BIBLIOGRAFIAS	16

TÍTULO: Filogeografia de *Phellinus piptadeniae* s.s. (HYMENOGAETACEAE, BASIDIOMYCOTA)

1 Justificativa e antecedentes

1.1 Histórico de *Phellinus piptadeniae* Teixeira

Abrigando cerca de 60% das espécies de Hymenochaetales Oberw., Hymenochaetaeaceae Donk reúne fungos degradadores de madeira de formas macroscópicas variando entre estereoides, coraloides, hidnóides e poliporóides (Hibbet et al., 2014). Em sua maioria, as espécies da família apresentam sistema hifal monomítico (composto inteiramente por hifas generativas) e dimítico (além de hifas generativas possuem hifas esqueléticas na estrutura do basidioma), septo simples com parentossomo imperfurado e reação xantocróica, onde a parede das hifas e/ou esporos, em solução de KOH, torna-se permanentemente negra. Além disso, algumas das espécies produzem terminações hifais modificadas, como cistídios de parede espessada e geralmente acuminada (setas e/ou pseudosetas). Além disso as espécies desta família produzem uma podridão branca na madeira (Fiasson, 1982; Fiasson & Niemelä, 1984; Wagner & Fischer, 2001, 2002; Larsson et al. 2006; Hattori et al., 2014).

Integrantes do gênero *Phellinus* Quélet *sensu latu* – um dos maiores agrupamentos de Hymenochaetaeaceae – apresentam ampla distribuição geográfica e realizam nutrição por saprotrofismo e/ou parasitismo (Fischer & Binder 2004), sob diferentes níveis de especialização. Alguns exemplos de espécies com especialização por hospedeiros em particular são citados por Robledo et al. (2006) para as florestas de “tabaquillo” da Argentina, em destaque o parasita *Phellinus uncisetus* Robledo, Urcelay & Rajchenb., uma espécie aparentemente endêmica das florestas de “tabaquillo” da província de Córdoba e até o momento registrada somente parasitando *Polylepis australis* Bitt.

Dentre inúmeros exemplos a serem citados, *Phellinus piptadeniae* foi descrito por Teixeira (1950) como um fungo poliporóide, teoricamente um parasita facultativo (biotrófico) especializado em Pau-Jacaré (*Piptadenia communis* Benth. = *Pi. gonoacantha* (Mart.) J. F. Macbr., Fabaceae). Em seu trabalho, Teixeira hipotetiza que a abrangência geográfica de *P. piptadeniae* provavelmente esteja relacionada à distribuição geográfica do seu hospedeiro, o qual ocorre em alta densidade demográfica na região sul e sudeste do domínio da Mata Atlântica e do Cerrado (Carvalho 2004; Morim 2015; figura 1). Apesar de sua hipótese, o protocolo da proposição da espécie apresenta materiais examinados da região leste do estado de São Paulo (municípios de Campinas, Torrinha, Piracicaba, Monte Alegre do Sul e São

Paulo). Ou seja, aparentemente, Teixeira nunca examinou espécimes de fungos de outras áreas de ocorrência de *Pi. gonoacantha*.

Adicionalmente, duas incongruências podem ser citadas em relação a *P. piptadeniae*, a primeira refere-se a sua posição taxonômica genérica e a segunda quanto a sua especificidade em relação ao hospedeiro *Pi. gonoacantha*.

De fato a espécie não se adequa ao conceito genérico *Phellinus* s.s., o qual é caracterizado por apresentar sistema hifal dimítico, setas himeniais e basidiósporos hialinos a amarelo pálido (Wagner & Fischer 2002). Possivelmente essa inadequação foi detectada por Teixeira (1992) ao realizar a combinação da espécie ao gênero *Fomitiporella* Murrill, propondo assim *F. piptadeniae* (Teixeira) Teixeira. No entanto ao realizar a combinação, o autor simplesmente não apresenta argumentos para tal. Além de que, em sua posterior obra denominada “Genera of Polyporaceae” (Teixeira 1994), o autor cita como característica do gênero *Fomitiporella* a ausência de linha negra resinosa no contexto. Além disso, *Fomitiporella* é conhecido como um gênero que apresenta apenas espécies com basidiomas resupinados (Wagner & Fischer 2002). O atual conceito morfológico de *P. piptadeniae* é apresentado por Salvador-Montoya et al. (2015) ainda como uma espécie de *Phellinus* s.l. Na obra os autores diagnosticam o táxon pela combinação de basidiomas perenes, triquetosos a unguículados, superfície superior do píleo rimosa, presença de camadas de contexto entre estratificações dos tubos e a presença de linha negra no contexto como caráter diagnóstico para o táxon.

A segunda incoerência – a possível especificidade em *Pi. gonoacantha* – é encontrada durante a investigação de Drechsler-Santos et al. (2010) da família Hymenochaetaceae em plantas nativas da Caatinga. No estudo, *P. piptadeniae* foi registrado parasitando espécimes dos gêneros *Senegalia* Raf. e *Mimosa* R. Br., além das espécies *Pi. obliqua* (Pers.) J. F. Macbr. e *Pi. stipulacea* (Benth.) Ducke, ambas leguminosas restritas ao domínio da Caatinga *sensu* Morim (2015). Deste modo, Drechsler-Santos et al. (2010), além de ampliar a distribuição geográfica do táxon, apresenta o fungo como hospedeiro-recorrente (e.g. Zhou & Hyde 2001) em espécies de *Piptadenia* Benth. na região estudada. Embora *Piptadenia stipulacea* seja proximamente relacionada a *Pi. gonoacantha*, pertencendo ambas ao clado Eupiptadenia, são de fato espécies distintas (Jobson & Luckow 2007).

Recentemente, em trabalho realizado por Salvador-Montoya et al. (2015), novos registros do táxon foram realizados para a região sul do domínio da Mata Atlântica (estados de São Paulo e Santa Catarina) e Florestas Sazonalmente Secas do Peru. Enquanto os espécimes da Mata Atlântica foram amostrados parasitando *Pi. gonoacantha*, os espécimes

das florestas secas do Peru foram registrados em *Pithecellobium excelsum* (Kunth) Mart. e *Libidibia glabrata* Kunth, ambas leguminosas. Morfológicamente, a maior divergência detectada pelos autores entre os espécimes coletados nas florestas secas do Peru e as demais localidades, está no tamanho dos basidiósporos (5.5–6 x 4–4.5 µm e 5–5.5 x 3.5–4 µm, respectivamente).

Desse modo, Salvador-Montoya et al. (2015) estabelecem duas hipóteses: (i) *P. piptadeniae* corresponde a um complexo taxonômico composto por pelo menos três espécies distintas, especializadas em hospedeiros em particular e com distribuição restritas à diferentes áreas e (ii) *P. piptadeniae* corresponde a uma única espécie com ampla e disjunta distribuição geográfica ao longo do bioma das Florestas Tropicais Sazonalmente Secas da América do Sul. Com respeito a isso, evidências moleculares (Salvador-Montoya et al., dados não publicados) a partir de análises filogenéticas da região rDNA ITS, apontam para a primeira hipótese, ou seja, confirmam as três linhagens como independentes. Sendo assim, as populações associadas a *Pi. gonoacantha* localizadas na região sul e sudeste da Mata Atlântica, e possivelmente à distribuição do hospedeiro na Mata Atlântica e parte do Cerrado, corresponderiam à *P. piptadeniae sensu stricto*.

1.2 Filogeografia como ferramenta para estudo de *Phellinus piptadeniae* s.s.

Desde a inclusão de caracteres microscópicos na taxonomia de fungos (e.g. Patouillard 1900), consideráveis avanços na compreensão das relações evolutivas do grupo foram reconhecidas. Apesar disso, a taxonomia de fungos baseada apenas em caracteres morfológicos (macro e/ou microscópicos) é frequentemente divergente quando confrontada a outros conceitos de espécie, como biológico ou filogenético (Petersen & Hughes 1999; Taylor et al. 2000). Muitos grupos possuem variados e complexos ciclos de vida e cada etapa pode sofrer diferentes pressões evolutivas, representando um desafio para o uso da morfologia única e exclusivamente, a qual nos fungos é restrita somente ao seu estágio reprodutivo (e.g. Petersen & Hughes 1999). Além disso, sabe-se que a evolução fenotípica em microrganismos frequentemente acontece em velocidade inferior a velocidade do estabelecimento de barreiras reprodutivas (Taylor et al. 2006), resultando na formação de complexos de espécies.

Adicionalmente, fenômenos de hibridização e o fluxo gênico entre populações contribuem significativamente para formação de espécies crípticas (Kausarud et al. 2007a; Linzer et al. 2008). Linhagens híbridas, apesar de apresentarem desvantagem na competição por substrato em relação às linhagens puras (Garbelotto et al. 2007), podem desenvolver

habilidades complementares para explorar novos substratos/hospedeiros (Newcombe et al. 2000), desse modo aumentando sua abrangência geográfica e/ou consequentemente formando populações localmente adaptadas e com morfologia indistinta (Kausrud et al. 2007b; Carlsen et al. 2011). A adaptação ecológica é um importante modo de especiação em fungos, a qual pode ser a troca de hospedeiro ou utilização de um novo tipo de substrato (Peever 2007), podendo levar a divergência dentro de espécies por simpatria (Seierstad et al. 2012).

Todos esses processos são registrados através de modificações hereditárias nas sequências nucleotídicas ao longo do genoma, representando esse, uma valiosa fonte de informações para estudo do passado evolutivo das espécies (Bromham 2009). A utilização dessas informações, aliadas a dados espacialmente localizados para testar hipóteses sobre a relação causal entre fenômenos geográficos, a distribuição das espécies, foi proposta por Avise (1998; 2000) no estabelecimento da Filogeografia, a ciência que une definitivamente as disciplinas de filogenética e a genética de populações (Hickerson et al. 2010).

Estudos filogeográficos realizados com animais vertebrados e invertebrados, algas e plantas são abundantes na literatura e compilações destas obras para interpretação de grandes processos evolutivos foram realizadas para Europa (Nieto 2011), América do Norte (Shafer et al. 2010), Nova Zelândia (Wallis & Trewick 2009), Austrália (Byrne 2008), África (Lorenzen et al. 2012) e América do Sul (Turchetto-Zolet et al. 2013). No entanto, trabalhos realizados com fungos são frequentemente ignorados nessas compilações, principalmente porque são escassos ou porque acabam utilizando táxons de ampla distribuição geográfica.

Dentre os poucos táxons abordados em estudos filogeográficos, podem ser citados: *Histoplasma capsulatum* Darling (Kasuga et al. 2003), *Amanita muscaria* (L.) Lam. (Geml et al. 2006), *Ganoderma australe-applanatum* (Moncalvo & Buchanan 2008), *Heterobasidion annosum* (Fr.) Bref. (Linzer et al. 2008) e *Gloeoporus taxicola* (Pers.) Gilb. & Ryvardeen (Seierstad et al. 2012). Dentre estes trabalhos, apenas Kasuga et al. (2003) e Moncalvo & Buchanan (2008) incluíram espécimes do Hemisfério Sul em sua amostragem, além de que utilizaram táxons amplamente distribuídos e desse modo pouco informativos para compreensão dos processos evolutivos atuantes sobre os fungos especificamente da América do Sul. Do mesmo modo, em nenhum dos trabalhos Hymenochaetaceae foi abordada, permanecendo assim uma lacuna no conhecimento para o grupo.

Diante do exposto, *P. piptadeniae* s.s. se torna um táxon interessante para ser estudado do ponto de vista filogeográfico, principalmente por ser um representante de Hymenochaetaceae exclusivo da América do Sul e especializado em *Pi. gonoacantha*, uma leguminosa também restrita a essa região, fornecendo assim importantes subsídios para

estratégias de conservação de ambos os táxons. Adicionalmente, a elucidação dos processos históricos envolvidos na diversidade genética e distribuição geográfica de *P. piptadeniae* s.s., possibilitará inferir sobre processos de especiação de fungos pertencentes ao domínio da Mata Atlântica e possivelmente do Cerrado (considerando a abrangência geográfica do hospedeiro).

2 Pergunta da pesquisa e Hipóteses a serem testadas

O presente projeto será direcionado pela pergunta:

- Qual é a estrutura genética de *P. piptadeniae* s.s. e quais os possíveis fatores influenciam essa estrutura genética e distribuição geográfica?

Serão testadas as seguintes hipóteses:

- A diversidade haplotípica das populações de *P. piptadeniae* s.s. é contínua e fatores como distância geográfica e gradientes ambientais e fitogeográficos não afetam significativamente essa diversidade.

Hipótese alternativa.

- A estrutura filogeográfica de *P. piptadeniae* s.s. é descontínua em resposta aos fatores acima mencionados.

3 Objetivos

3.1 Objetivo geral

Identificar a estrutura filogeográfica de *P. piptadeniae* s.s. através de marcadores moleculares nucleares e verificar quais são os fatores relacionados a conformação observada.

3.2 Objetivos específicos

- Confirmar o padrão de distribuição geográfica potencial de *P. piptadeniae* s.s., considerando áreas de ocorrência do hospedeiro ainda não amostradas;
- Sequências as regiões ITS e *tef1-α*, e avaliar seu potencial para estudo filogeográfico da espécie;
- Identificar haplótipos inter e intra populacionais;
- Caracterizar a diversidade genética das populações;
- Inferir sobre a estrutura filogeográfica da espécie.

4 Metodologia

4.1 Seleção das áreas de amostragem

Todas as análises espaciais foram realizadas no software QGIS versão 2.8.1 (QGIS Development Team, 2015). A potencial distribuição geográfica de *P. piptadeniae* foi determinada com base nos registros de ocorrência de seu hospedeiro (*Pi. gonoacantha*), a qual foi determinada com base em registros disponíveis em listas virtuais de acervos de herbário (UB, NY, FLOR, HUEFS, SP, entre outros) e publicados no Herbário Virtual da Flora e dos Fungos (INCT, 2015). Cada registro foi inspecionado manualmente, eliminando-se espécimes com informações insuficientes ou registradas fora do território nacional.

Os registros selecionados foram sobrepostos aos mapas contendo as 1431 Unidades de Conservação (UCs) de âmbito Municipal, Estadual e Federal constantes no Cadastro Nacional de Unidades de Conservação (MMA, 2015). As UCs foram filtradas de modo que apenas áreas com registro do hospedeiro fossem destacadas, selecionando-se nesta etapa 48 áreas. A busca por áreas localizadas em regiões de maior densidade demográfica do hospedeiro, foi realizada gerando-se um mapa de calor com estimador de densidade de Kermel (figura 1C), considerando raio de influência de 5000 metros. O raio foi determinado de acordo com o espécime registrado com menor precisão geográfica considerado neste estudo (dois graus decimais), gerando então o valor estipulado (e.g. Braga-Neto 2013). Nesta etapa foram selecionadas 13 áreas (figura 1; citadas na integra). Adicionalmente foram considerados registros disponíveis em artigos científicos para confirmação da presença do hospedeiro nos locais selecionados.

Unidades de Conservação marcadas com asterisco (*) representam áreas de amostragem prioritárias para identificação da estrutura filogeográfica de *P. piptadeniae*, as demais áreas serão visitadas de acordo com a disponibilidade de tempo e recursos financeiros.

CERRADO. Distrito Federal. *(i) Parque Nacional (PARNA) de Brasília, (ii) Área de Proteção Ambiental (APA) da Bacia dos Ribeirões do Gama e Cabeça de Veado, (iii) APA do Planalto Central. **MATA ATLÂNTICA. Santa Catarina.** *(iv) Parque Estadual da Serra do Tabuleiro; **Paraná.** (v) APA de Guaraqueçaba; **São Paulo.** *(vi) APA de Campinas, (vii) APA Itupararanga, (viii) APA Piracicaba Juqueri-Mirim Área II; **Rio de Janeiro.** (ix) PARNA do Itatiaia, *(x) APA da Bacia do Rio São João/Mico Leão Dourado, (xi) APA Macaé de Cima, (xii) APA de Petrópolis, (xiii) Reserva Biológica do Tinguá.

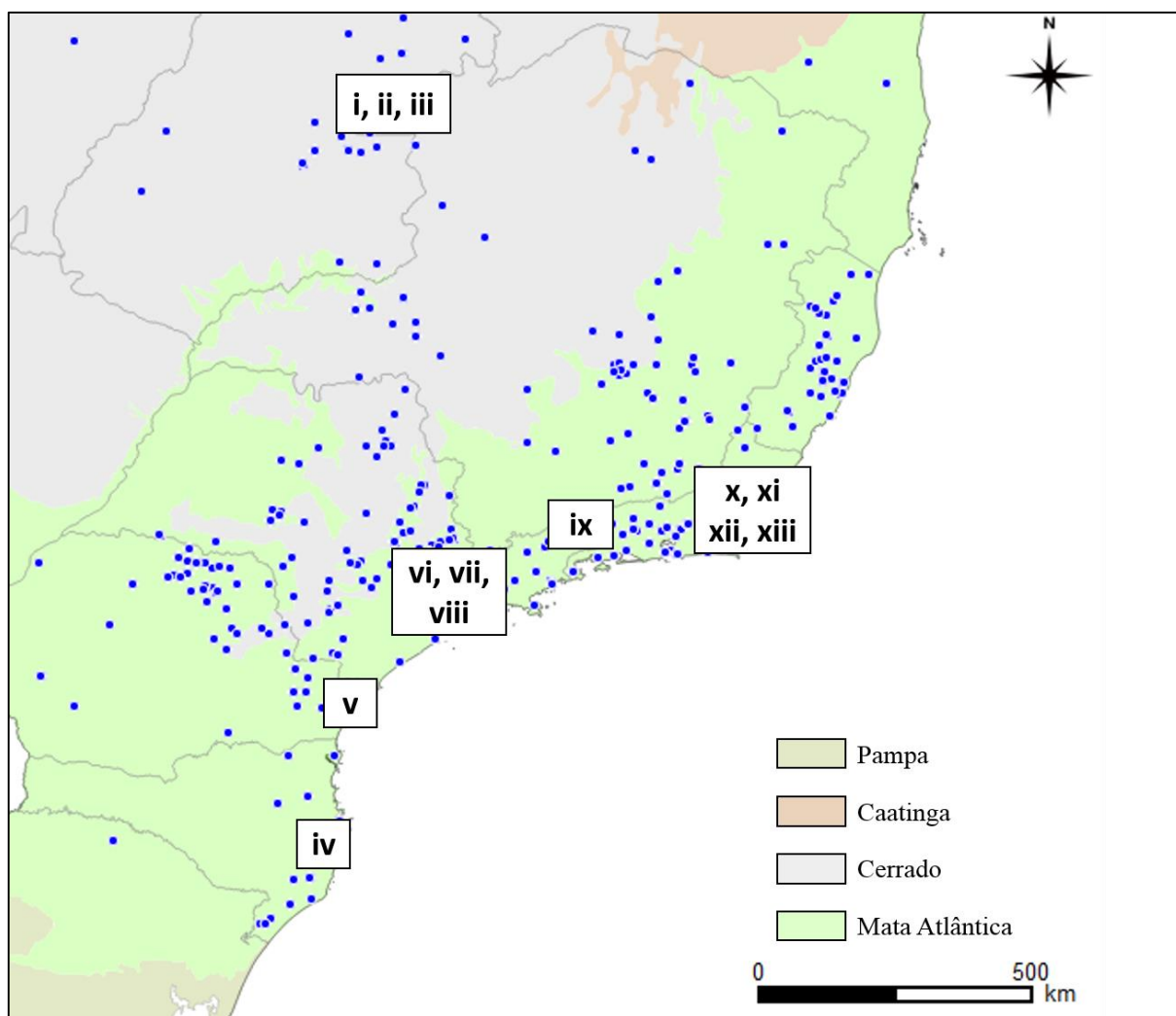


Figura 1. Distribuição das áreas de coleta. Círculos azuis representam registros individuais de *Pi. gonoacantha*. Polígonos brancos indicam a localização e identificação das áreas de coleta selecionadas, em que: Distrito Federal. *(i) Parque Nacional (PARNA) de Brasília, (ii) Área de Proteção Ambiental (APA) da Bacia dos Ribeirões do Gama e Cabeça de Veado, (iii) APA do Planalto Central. Santa Catarina. *(iv) Parque Estadual da Serra do Tabuleiro; Paraná. (v) APA de Guaraqueçaba; São Paulo. *(vi) APA de Campinas, (vii) APA Itupararanga, (viii) APA Piracicaba Juqueri-Mirim Área II; Rio de Janeiro. (ix) PARNA do Itatiaia, *(x) APA da Bacia do Rio São João/Mico Leão Dourado, (xi) APA Macaé de Cima, (xii) APA de Petrópolis, (xiii) Reserva Biológica do Tinguá.

4.2 Técnicas de coleta

Em campo os basidiomas serão coletados e as amostras georeferenciadas com auxílio de um aparelho de sistema de posicionamento global (GPS). Informações referentes localização geográfica, condições do substrato/hospedeiro e demais informações pertinentes serão anotadas em planilha de campo. Todas as coletas devem ser registradas em fotografias possibilitando sua disponibilização no ato de tombo no herbário FLOR (UFSC). Fragmentos do basidioma e amostras de folhas do hospedeiro para extração de DNA e posteriores estudos

moleculares serão coletados e envoltos em papel manteiga, identificados e acondicionados em sacos plásticos (tipo ziplock) contendo sílica.

4.3 Análises moleculares

4.3.1 Extração de material genético

Serão utilizadas secções dos basidiomas coletados para extração de material genético. A extração seguirá o protocolo de Doyle & Doyle (1987) adaptado por Góes-Neto et al. (2005) para fungos. No procedimento é realizada a lise celular com proteinase-K, RNAase e detergentes (CTAB) seguida de eliminação de proteínas e material celular com fenol e clorofórmio seguida de precipitação do DNA com isopropanol. A proporção dos reagentes podem variar de acordo com as características dos diferentes espécimes. Todo o processo será realizado no Laboratório de Biologia Molecular do Departamento de Botânica da UFSC.

4.3.2 Amplificação e sequenciamento

A inferência dos haplótipos será realizada nas regiões ITS e *tef1-α*. As regiões de interesse serão amplificadas através de reações de PCR (Polymerase Chain Reaction) em termociclador (Techne TC-3000). Serão utilizados os primers ITS1 e ITS4 (Gardes & Bruns 1993) e *tef1F* e *tef1R* (Morehouse et al. 2003). A confirmação do sucesso do processo de amplificação será realizada em eletroforese de gel de agarose 1% no Laboratório de Biologia Molecular do Departamento de Botânica da UFSC.

O material resultante será purificado de acordo com protocolo com Polietilenoglicol (PEG) e os fragmentos de DNA resultantes serão sequenciados através do método Sanger em sequenciador automático na plataforma René Rachou, Friocruz, Belo Horizonte/MG no âmbito do projeto Barcoding Brasil. A verificação da qualidade das sequências, assim como sua edição será realizada no software Geneious® v.6 (Kearse et al. 2012).

4.3.3 Curadoria dos dados

As sequências geradas serão submetidas ao algoritmo de alinhamento MAFFT v. 7 (Kato & Standley, 2013) e curadas com o software online GBlocks v. 6 (Castresana, 2000). As matrizes finais serão conferidas e editadas manualmente com a utilização do software MEGA v.6 (Tamura et al., 2013).

4.4 Análises estatísticas

4.4.1 Análise genética das populações

Os dados serão obtidos pela separação das sequências heterozigóticas geradas de cada espécime. A separação das sequências e reconstrução dos haplótipos será realizada no software DnaSP v.5 (Librado & Rozas, 2009). Será utilizado o método de reconstrução estatístico PHASE (Stephens et al., 2001; Stephens & Donnelly, 2003). Para calcular os índices de diversidade genética (número de haplótipos, diversidade de nucleotídeos e diversidade de haplótipos) será utilizado o software Arlequin v. 3.5.1.3 (Excoffier & Lischer 2010). A construção das redes de haplótipos será realizada através do software TCS (Clement et al. 2000).

4.4.2 Análises espaciais

A caracterização da estrutura filogeográfica de *P. piptadeniae* será realizada através de três abordagens. Primeiro, os padrão de isolamento por distância será testado pela correlação da matriz de distância genética pareada (F_{st}) entre todos os locais de coleta com a distância geográfica através da Matriz de Correspondência de Mantel, este será realizado no software IBD v. 1.52 (Bohonak 2002). Segundo, a Análise Espacial de Variância Molecular será realizada no software SAMOVA v. 1.0 (Dupanloup et al. 2002), a técnica visa identificar grupos homogêneos dentro das populações amostrais e maximiza sua diferença em relação as demais. Terceiro, será aplicado o Algoritmo de Máxima Diferença de Monmonier (Monmonier 1973) através do software AIS (Miller 2005). A primeira técnica é voltada a identificação do cenário histórico atuante diretamente sobre a distribuição dos genes, as seguintes visam identificar partições geográficas entre e dentre as populações amostrais (Kidd & Ritchie 2006).

5 Resultados esperados

Com a execução deste projeto espera-se produzir:

- Um mapa da distribuição de *P. piptadeniae* com populações caracterizadas a partir dos haplótipos encontrados;
- Uma rede de fluxo gênico estabelecida entre as populações com as barreiras definidas;

- Pelo pioneirismo do estudo espera-se ainda que esse sirva como base para trabalhos filogeográficos com outras espécies de macrofungos da América do Sul.

6 Cronograma

6.1 Físico

[illegible]

6.2 Financeiro

	Quantidade	Valor un. R\$	Total R\$
CUSTEIO			
Extração de DNA (reagentes: CTAB, fenol, clorofórmio, isopropanol, álcool isoamílico e etanol)	50	5.00	250.00
Amplificação (taq polimerase, primers, dntp)	200	5.00	1000.00
Sequenciamento	500	15.00	7500.00
Expedições de coleta de carro	1	700.00	700.00
Passagens aéreas (antecipadas)	2	160.00	320.00
Subtotal			9770.00
CAPITAL			
GPS	1	1200.00	1200.00
Microscópio	1	3500.00	3500.00
Câmera fotográfica	1	1000.00	1000.00
Centrífuga	1	1500.00	1500.00
Banho Maria	1	1000.00	1000.00
Termociclador	1	23000.00	23000.00
Pipetas (10 µL, 100 µL, 1000µL)	3	600.00	1800.00
Material plástico	1	500.00	500.00
Cuba, fonte Eletroforese	1	4000.00	4000.00
Transiluminador	1	6500.00	6500.00
Banho seco	1	700.00	700.00
Vórtex	1	730.00	730.00
Vidraria	1	500.00	500.00
Subtotal			45930.00
TOTAL GERAL			55700.00

7 Bibliografias

AMALFI, M.; RAYMUNDO, T.; VALENZUELA, R.; DECOCK, C. *Fomitiporia cupressicola* sp. nov., a parasite on *Cupressus arizonica*, and additional unnamed clades in the southern USA and northern Mexico, determined by multilocus phylogenetic analyses. **Mycologia**. v. 104, n. 4, p. 880-93, 2012.

AVISE, J. C. **Phylogeography The history and formation of species**. Harvard University Press, Harvard. 2000, 470 p.

AVISE, J. C. The history and purview of phylogeography: a personal reflection. **Molecular ecology**. v. 7, p. 4371-9, 1998.

BOHONAK, A. J. IBD (Isolation By Distance): a program for analyses of isolation by distance. **Journal of Heredity**, v. 93, p. 153–154, 2002

BRAGA-NETO, R; DE-GIOVANNI, R.; PEZZINI, F. F.; CANHOS, D. A. L.; MARINO, A.; SOUZA S.; MAIA L. C. Spatial data for fungal specimens: retrospective georeferencing and practical recommendations for mycologists. **Mycotaxon**. Volume 125, pp. 289–301, 2003.

BROMHAM, L. Why do species vary in their rate of molecular evolution? **Biology letters**. v. 5, n. 3, p. 401-4, 2009.

BYRNE, M. Evidence for multiple refugia at different time scales during Pleistocene climatic oscillations in southern Australia inferred from phylogeography. **Quaternary Science Reviews**. v, 27, p. 2576-85, 2008.

CARLSEN, T.; ENGH, I.B.; DECOCK, C.; RAJCHENBERG, M.; KAUSERUD, H. Multiple cryptic species with divergent substrate affinities in the *Serpula himantioides* species complex. **Fungal biology**. v. 115, n. 1, p. 54-61, 2011.

CARVALHO, P. E. R. **Pau-Jacaré - Piptadeniagonoacantha**. Taxonomia e Nomenclatura. Concórdia: Embrapa Florestas, Circular Técnica 91, 2004. 12p.

CASTRESANA, J. Selection of conserved blocks from multiple alignments for their use in phylogenetic analysis. **Molecular Biology and Evolution**. v. 17, p. 540-552, 2000.

CLEMENT, M. D.; POSADA, D.; CRANDALL, K. L. TCS: a computer program to estimate genealogies. **Molecular Ecology**. v. 9, p. 1657–1660, 2000.

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

DRECHSLER-SANTOS, E.R.; SANTOS, P.J.P.; GIBERTONI, T.B.; CAVALCANTI, M.A.Q. Ecological aspects of Hymenochaetaceae in an area of Caatinga (semi-arid) in Northeast Brazil. **Fungal Diversity**. v. 42, n. 1, p. 71-8, 2010.

DUPANLOUP, I.; SCHNEIDER, S.; EXCOFFIER, L. A simulated annealing approach to define the genetic structure of populations. **Molecular Ecology**. v. 11, p. 2571–2581, 2002.

EXCOFFIER, L.; LISCHER, H. E. L. Arlequin suite ver 3.5: A new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. **Molecular Ecology Resources**. v. 10, p. 564-567, 2010.

FIASSON, J. L. Distribution of styrylpyrones in the basidiocarps of various Hymenochaetaceae. **Biochemical Systematics and Ecology**. v. 10, n. 4, p. 289-96, 1982.

FIASSON, J. L.; NIEMELA, T. The Hymenochaetales: a revision of the European poroid taxa. **Karstenia**. v. 24, p. 14-28, 1984.

FISCHER, M.; BINDER, M. Species recognition, geographic distribution and host-pathogen relationships: a case study in a group of lignicolous basidiomycetes, *Phellinus s.l.* **Mycologia**. v. 96, n. 4, p. 799-811, 2004.

GARBELOTTO, M.; GONTHIER, P.; NICOLOTTI, G. Ecological constraints limit the fitness of fungal hybrids in the *Heterobasidion annosum* species complex. **Applied and Environmental Microbiology**. v. 73, p. 6106-6111, 2007.

GARDES, M.; BRUNS, T. D. ITS primers with enhanced specificity for basidiomycetes--application to the identification of mycorrhizae and rusts. **Molecular ecology**. v. 2, n. 2, p. 113-8, 1993.

GEML, J.; LAURSEN, G. A.; O'NEILL, K.; NUSBAUM, H.C.; TAYLOR, D. L. Beringian origins and cryptic speciation events in the fly agaric (*Amanita muscaria*). **Molecular ecology**. v. 15, n. 1, p. 225-39, 2006.

GOES-NETO, A.; LOGUERCIO-LEITE, C.; GUERRERO, R.T. DNA extraction from frozen field-collected and dehydrated herbarium fungal basidiomata: performance of SDS and CTAB-based methods. *Biotemas*. v. 18, n. 2, p. 19-32, 2005.

HATTORI, T.; SAKAYAROJ, J.; JONES, E. B. G.; SUETRONG, S.; PREEDANON, S.; KLAYSUBAN, A. Three species of *Fulvifomes* (Basidiomycota, Hymenochaetales) associated with rots on mangrove tree *Xylocarpus granatum* in Thailand. *Mycoscience*. v. 55, n. 5, p. 344-54, 2014.

HIBBETT, D. S.; BAUER, R.; BINDER, M.; GIACHINI, A. J.; HOSAKA, K.; JUSTO, A.; LARSSON, E.; LARSSON, K. H.; LAWREY, J. D.; MIETTINEN, O.; NAGY, L. G.; NILSSON, R. H.; WEISS, M.; THORN, R. G. Agaricomycetes. In: McLaughlin, D.J.; Spatafora, J.W. Systematics and Evolution. *The Mycota*. Springer Berlin Heidelberg. p. 373-429, 2014.

HICKERSON, M. J.; CARSTENS, B. C.; CAVENDER-BARES, J.; CRANDALL, K. A.; GRAHAM, C.H.; JOHNSON, J. B.; RISSLER, L.; VICTORIANO, P. F.; YODER, A. D. Phylogeography's past, present, and future: 10 years after Avise, 2000. *Molecular phylogenetics and evolution*. v. 54, n. 1, p. 291-301, 2010.

IBGE, Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Base vetorial contínua escala 250 mil. Disponível em: <ftp://geoftp.ibge.gov.br/mapeamento_sistematico/base_vetorial_continua_escala_250mil/>. Acesso em: 20 de abril de 2015.

INCT, Herbário Virtual da Flora e dos Fungos. *Piptadenia gonoacantha*. Disponível em: <<http://www.splink.org.br/>> em 24 de Maio de 2015.

KASUGA, T.; WHITE, T. J.; KOENIG, G.; MCEWEN, J.; RESTREPO, A.; CASTANEDA, E.; DA SILVA L. C.; HEINS-VACCARI, E. M.; DE FREITAS, R. S.; ZANCOPE-OLIVEIRA, R. M.; QIN, Z.; NEGRONI, R.; CARTER, D. A.; MIKAMI, Y.; TAMURA, M.; TAYLOR, M. L.; MILLER, G. F.; POONWAN, N.; TAYLOR, J. W. Phylogeography of the fungal pathogen *Histoplasma capsulatum*. *Molecular ecology*. v. 12, n. 12, p. 3383-401, 2003.

KATO, K.; STANDLEY, D. M. MAFFT Multiple Sequence Alignment Software Version 7: Improvements in Performance and Usability. *Molecular Biology and Evolution*. v. 30, n. 4, p. 772-80, 2013.

KAUSERUD, H.; HOFTON, T.H.; SAETRE, G.P. Pronounced ecological separation between two closely related lineages of the polyporous fungus *Gloeoporus taxicola*. **Mycological Research**. n. 111, p. 778-786. 2007b.

KAUSERUD, H.; SVEGARDEN, I. B.; DECOCK, C.; HALLENBERG, N. Hybridization among cryptic species of the cellular fungus *Coniophora puteana* (Basidiomycota). **Molecular ecology**. v. 16, n. 2, p. 389-99, 2007a.

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., MENTJES, P., & DRUMMOND, A. Geneious Basic: an integrated and extendable desktop software platform for the organization and analysis of sequence data. **Bioinformatics**, v. 28, n. 12, p. 1647-1649, 2012.

KIDD, D. M.; RITCHIE, M. G. Phylogeographic information systems: putting the geography into phylogeography. **Journal of Biogeography**. v. 33, n. 11, p. 1851-65, 2006,

LARSSON, K. H.; PARMASTO, E.; FISCHER, M.; LANGER, E.; NAKASONE, K. K.; REDHEAD, S. A. Hymenochaetales: a molecular phylogeny for the hymenochaetoid clade. **Mycologia**. v. 98, n. 6, p. 926-36, 2006.

LIBRADO, P.; ROZAS, J. DnaSP v5: A software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. **Bioinformatics**. v. 25, n. 1451-1452, 2009.

LINZER, R. E.; OTROSINA, W. J.; GONTHIER, P.; BRUHN, J.; LAFLAMME, G.; BUSSIERES, G.; GARBELOTTO, M. Inferences on the phylogeography of the fungal pathogen *Heterobasidion annosum*, including evidence of interspecific horizontal genetic transfer and of human-mediated, long-range dispersal. **Molecular phylogenetics and evolution**. v. 46, n. 3, p. 844-62, 2008.

LORENZEN, E. D.; HELLER, R.; SIEGISMUND, H. R. Comparative phylogeography of African savannah ungulates. **Molecular ecology**. v. 21, n. 15, p. 3656-70, 2012.

MILLER, M. P. Alleles in Space: computer software for the joint analysis of interindividual spatial and genetic information. **Journal of Heredity**. v. 96, p. 722-724, 2005.

MMA, Ministério do Meio Ambiente. Unidades de Conservação do Brasil. Disponível em: <<http://mapas.mma.gov.br/i3geo/datadownload.htm>>. Acesso em 15 de junho de .2015.

MONCALVO, J. M.; BUCHANAN, P.K. Molecular evidence for long distance dispersal across the Southern Hemisphere in the *Ganoderma applanatum-australe* species complex (Basidiomycota). **Mycological research**. v. 112, n. 4, p. 425-36, 2008.

MONMONIER, M. S. Maximum-difference barriers: an alternative numerical regionalization method. **Geographical Analysis**. v. 3, p. 245–261, 1973.

MOREHOUSE, E. A, JAMES, T.Y.; GANLEY, A. R.; VILGALYS, R.; BERGER, L.; MURPHY, P. J.; LONGCORE, J. E. Multilocus sequence typing suggests the chytrid pathogen of amphibians is a recently emerged clone. **Molecular ecology**. v. 12, n. 2, p. 395-403, 2003.

MORIM, M. P. Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. *Piptadenia* Benth.. Disponível em: <<http://reflora.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB31387>>. Acesso em: 21 Jun. 2015.

NEWCOMBE, G.; STIRLING, B.; MCDONALD, S.; BRADSHAW, H. D. *Melampsora columbiana*, a natural hybrid of *M. medusae* and *M. occidentalis*. **Mycological Research**. v. 104, p. 261-274, 2000.

NIETO, F. G. Southern European glacial refugia: a tale of tales. **Taxon**. v. 60, p. 365–372, 2011.

PATOUILLARD, N. **Essai taxonomique sur les familles et les genres des Hyménomycètes**. Librairie Paul Klincksieck, Paris, 1900, 184 p.

PEEVER, T. Role of host specificity in the speciation of *Ascochyta* pathogens of cool season food legumes. In: TIVOLI, B.; BARANGER, A.; MUEHLBAUER, F.; COOKE, B. M. **Ascochyta blights of grain legumes**. Springer Netherlands. p. 119-26, 2007.

PETERSEN, R. H, HUGHES, K. W. Species and Speciation in Mushrooms: Development of a species concept poses difficulties. **BioScience**. v. 49, n. 6, p. 440-52, 1999.

QGIS Development Team, **QGIS Geographic Information System**. Open Source Geospatial Foundation Project, 2015.

ROBLEDO, G.; URCELAY, C.; DOMINGUEZ, L.; RAJCHENBERG, M. Taxonomy, ecology and biogeography of polypores (Basidiomycota) from Argentinian *Polylepsis* woodlands. **Can. J. Bot.** v. 84, p. 1561-1572, 2006.

- SALVADOR-MONTOYA, C.; ROBLEDO, G.; CARDOSO, D.; BORBA-SILVA, M.; FERNANDES, M.; DRECHSLER-SANTOS, E. *Phellinus piptadeniae* (Hymenochaetales: Hymenochaetaceae): taxonomy and host range of a species with disjunct distribution in South American seasonally dry forests. **Plant SystEvol.** v. 301, p. 1887–1896, 2015.
- SEIERSTAD, K. S.; CARLSEN, T.; SÆTRE, G. P.; MIETTINEN, O.; HELLIK, H. T.; KAUSERUD, H. A phylogeographic survey of a circumboreal polypore indicates introgression among ecologically differentiated cryptic lineages. **Fungal Ecology.** v. 6, n. 1, p. 119-28, 2013.
- SHAFFER, A. B.; CULLINGHAM, C. I.; COTE, S. D.; COLTMAN, D. W. Of glaciers and refugia: a decade of study sheds new light on the phylogeography of northwestern North America. **Molecular ecology.** v. 19, n. 21, p. 4589-621, 2010.
- STEPHENS, M.; DONNELLY, P. A comparison of bayesian methods for haplotype reconstruction from population genotype data. **American journal of human genetics.** v. 73, n. 5, p. 1162-9, 2003.
- STEPHENS, M.; SMITH, N. J.; DONNELLY, P. A new statistical method for haplotype reconstruction from population data. **American journal of human genetics.** v. 68, n. 4, p. 978-89, 2001.
- TAMURA, K.; STECHER, G.; PETERSON, D.; FILIPSKI, A.; KUMAR, S. MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 6.0. **Molecular Biology and Evolution.** v. 30. p. 2725-2729, 2013.
- TAYLOR, J. W.; JACOBSON, D. J.; KROKEN, S.; KASUGA, T.; GEISER, D. M.; HIBBETT, D. S.; FISHER, M. C. Phylogenetic species recognition and species concepts in fungi. **Fungal genetics and biology.** v. 31, n. 1, p. 21-32, 2000.
- TAYLOR, J. W.; TURNER, E.; TOWNSEND, J. P.; DETTMAN, J. R.; JACOBSON, D. Eukaryotic microbes, species recognition and the geographic limits of species: examples from the kingdom Fungi. **Philosophical transactions of the Royal Society of London Series B, Biological sciences.** v. 361, n. 1475, p. 1947-63, 2006.
- TEIXEIRA, A. R. **Genera of Polyporaceae:** na objective approach. Boletim da Chacara Botanica de ITU, n. 1, 1994, 91 p.

TEIXEIRA, A. R. Himenomicetos brasileiros—V Polyporaceae 2. **Bragantia**. v. 10, p. 113–122, 1950.

TEIXEIRA, A. R. New combinations and new names in the Polyporaceae. **Revista Brasil Bot.** v. 15, p. 125–127, 1992.

TURCHETTO-ZOLET, A. C.; PINHEIRO, F.; SALGUEIRO, F.; PALMA-SILVA, C.
Phylogeographical patterns shed light on evolutionary process in South America. **Molecular ecology**. v. 22, n. 5, p. 1193-213, 2013.

WAGNER, T.; FISCHER, M. Classification and phylogenetic relationships of Hymenochaete and allied genera of the Hymenochaetales, inferred from rDNA sequence data and nuclear behaviour of vegetative mycelium. **Mycol Progress**. v. 1, n. 1, p. 93-104, 2002.

WAGNER, T.; FISCHER, M. Proceedings towards a natural classification of the worldwide taxa *Phellinus s.l.* and *Inonotus s.l.*, and phylogenetic relationships of allied genera. **Mycologia**. v. 94, n. 6, p. 998–1016, 2002.

WAGNER, T.; FISCHER, M. Natural groups and a revised system for the European poroid Hymenochaetales (Basidiomycota) supported by nLSU rDNA sequence data. **Mycological research**. v. 105, n. 7, p. 773-82, 2001.

WALLIS, G. P.; TREWICK, S. A. New Zealand phylogeography: evolution on a small continent. **Molecular ecology**. v. 18, n. 17, p. 3548-80, 2009.