



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO NORTE
CENTRO DE BIOCÊNCIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SISTEMÁTICA E EVOLUÇÃO

**REVISÃO DO GÊNERO *BLUMENAVIA* MÖLLER (PHALLALES):
INTEGRAÇÃO DE DADOS MORFOLÓGICOS E MOLECULARES**

Projeto de Dissertação apresentado à
Coordenação do Programa de Pós-
Graduação em Sistemática e Evolução -
UFRN

Orientador: Prof^o Iuri Goulart Baseia
Co-orientadora: Prof^a María P. Martín
Proponente: Gislaïne Cristina de Souza
Melanda

Natal - RN
Março – 2016

RESUMO - Os fungos gasteroides são considerados um grupo artificial por abrigar organismos com origens evolutivas distintas. Em comum apresentam a maturação dos basidiósporos dentro do basidioma e a sua liberação de forma passiva. Na ordem Phallales a gleba é fétida capaz de atrair insetos para dispersão dos esporos. O gênero *Blumenavia* encontra-se atualmente inserido nesta ordem Phallales, na família Clathraceae. Apresenta quatro espécies: *B. rhacodes*, cuja localidade tipo é o Brasil, e *B. angolensis* da África. As outras duas espécies atualmente são consideradas sinônimos: *B. toribiotalpaensis* descrita originalmente para o México foi sinonimizada com *B. rhacodes* e *B. usambarensis* da África sinonimizada com *B. angolensis*. Os caracteres que diferenciam as espécies não estão totalmente definidos. Caracteres como disposição da gleba no receptáculo, cor do ovo e tamanho dos esporos são considerados por alguns autores e não por outros. Para o presente trabalho estudos morfológicos serão realizados a partir de exsicatas de herbários nacionais e internacionais e de espécimes que deverão ser coletados nos estados do Ceará, Santa Catarina e Paraná. Após a coleta, ainda em campo, características macroscópicas como cor, tamanho, textura e número de tubos internos do receptáculo serão analisados. Após a secagem dos espécimes, estes seguirão para as análises microscópicas em laboratório, para verificar o tamanho e forma dos esporos e das hifas. Para material herborizado a análise macroscópica será feita com o material seco, seguida da microscopia igual ao material de coleta. Estudos moleculares também farão parte do projeto, para as análises filogenéticas serão utilizados os métodos de Máxima Verossimilhança e Análise Bayesiana, utilizando-se os genes nucleares ITS, LSU e o gene mitocondrial ATP6. Com os dados obtidos, espera-se esclarecer os caracteres informativos para a separação das espécies dentro do gênero e determinar quais as espécies a serem consideradas.

Palavras-chave: Clathraceae, gasteromycetes, neotropicos, sistemática, taxonomia.

INTRODUÇÃO

Os fungos gasteroides se caracterizam por apresentar basidiomas angiocárpicos (Miller & Miller 1988). Angiocóspico é o nome dado à maturação dos basidióporos no interior do corpo de frutificação protegidos pelo perídio (parede externa que recobre o basidioma). Os basidióporos, que são os esporos do filo Basidiomycota, maturam em um tecido pegajoso, carnoso ou gelatinoso, chamado gleba, composta por esporos e hifas estéreis, com cavidades revestidas pelo himênio (Ellis & Ellis 1990). O himênio é a camada de tecido do corpo de frutificação onde as células se desenvolvem em basídios produtores de esporos. Outra característica que distingue os fungos gasteroides é a dispersão passiva de esporos (Alexopoulos *et al.* 1996, Miller & Miller 1988). Fries (1821) incluiu os fungos com estas características na classe gasteromycetes (do grego “*gaster*”, que significa estômago, e “*mycetes*”, fungos), mas na atualidade, graças aos dados moleculares, se confirma que essa classe era um agrupamento artificial, já que constitui várias linhagens evolutivamente distintas (polifilético) na classe Agaricomycetes Dowell.

Dentro da classe Agaricomycetes a subclasse Phallomycetidae abriga as ordens Geastrales, Phallales, Gomphales e Hysterangiales (Hibbet *et al.* 2014). A ordem Phallales foi estabelecida por Fischer (1898-99) com duas famílias: Clathraceae e Phallaceae. Segundo Hibbet *et al.* (2014) atualmente esta contém seis famílias: Phallaceae, Clathraceae, Lysuraceae, Protophallaceae, Claustulaceae, e Trappeaceae. A monofilia da ordem e de cada família é fortemente suportada por análises filogenéticas realizadas por Hosaka *et al.* (2006).

Devido a perda da capacidade de liberação ativa dos esporos, os gasteroides desenvolveram uma série de mecanismos dispersivos a fim de otimizar a propagação (Pegler *et al.* 1995). Dentre os mecanismos dispersivos os fungos da ordem Phallales apresentam um tipo de dispersão muito peculiar, denominado de mecanismo adesivo. Este mecanismo consiste na liberação de odores atrativos aos agentes dispersores (maioria composta por insetos). Ao se alimentar da gleba mucilaginosa o inseto fica com esporos aderidos ao corpo promovendo a dispersão (Pegler *et al.* 1995, Webster & Weber 2007, Baseia *et al.* 2014).

A família Clathraceae está intimamente relacionada com Phallaceae mas difere na complexidade e variabilidade morfológica do receptáculo. Em Phallaceae o tipo de desenvolvimento é unipileado, com uma gleba única apoiada externamente na parte superior do receptáculo (Figura 1a). Já em Clathraceae é multipileado, possui uma a várias glebas localizadas diretamente no interior ou na lateral do receptáculo (Miller & Miller 1988, Dring & Rayner 1967, Dring 1980).

Os representantes da família Clathraceae são denominados de fungos gaiola, do inglês “*cage fungi*” (Pegler & Gomez 1994), ou também chifres fedorentos em rede, “*lattice stinkhorns*” (Hibbet *et al.* 2014). Ao utilizar dados moleculares Trierveiler-Pereira *et. al* (2014a) afirmaram que a família Clathraceae é composta por *Abrachium*, *Anthurus*, *Aseroë*, *Blumenavia*, *Clathrus*, *Ileodictyon*, *Laternea*, *Pseudocolus*.

O que diferencia os gêneros nessa família é a forma do basidioma e a disposição da gleba. O basidioma (também chamado de receptáculo) pode apresentar diversas formas de braços: tubulares ou gelatinosos interconectados em forma de rede, entrelaçados, erguidos e soltos ou unidos na ponta, ou não apresentar braços e ser arqueado em forma de estrela (Cabral *et al.* 2012, Miller & Miller 1988). No gênero *Clathrus* o receptáculo é formado por uma rede oca, da qual derivam as outras formas (Figura 1b). No gênero *Blumenavia* (Figura 1c) é composto por braços verticais tubulares livres na base e unidos nas pontas, com glebíferos membranosos anexados ao lado interior das colunas, é sobre os glebíferos que se encontra a gleba fétida (Möller 1895, Dring 1980).

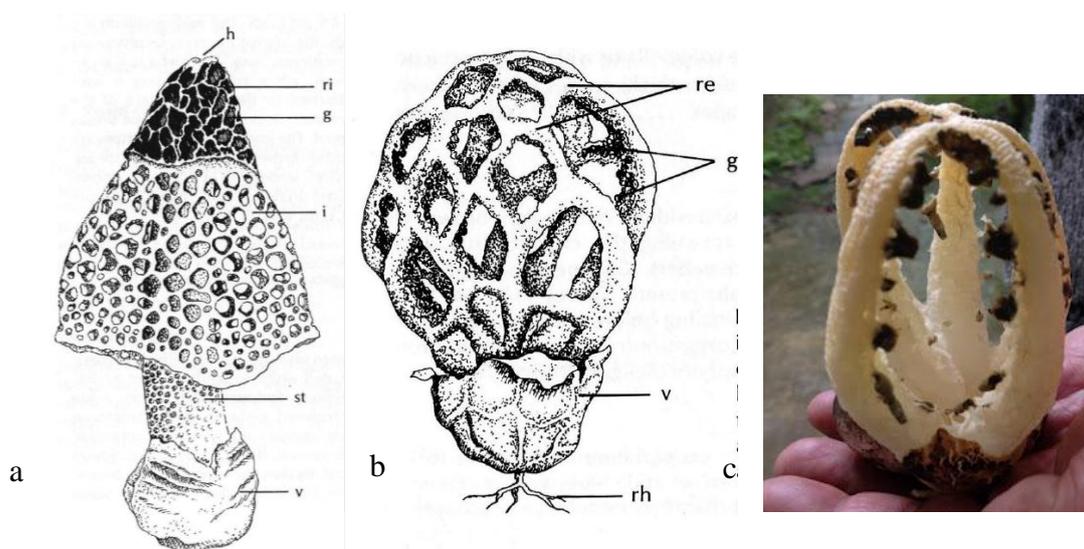


Figura1: Exemplos de representantes da família Phallaceae e Clathraceae. a: *Phallus indusiatus*. Indusio quase totalmente expandido (i) em projeções de baixo da gleba (g) que é separada por sulcos (ri) . O receptáculo (st) está aberto na parte superior (h), este se expande a partir da volva (v) quando o corpo de frutificação amadurece. Arquivo retirado de Miller & Miller 1988, onde a figura está com o nome antigo da espécie: *Dictyophora duplicata*. b: *Clathrus ruber*: Receptáculo em forma de rede (re), possui a gleba (g) no seu interior . Rizomorfos (rh) se proliferam na base da volva (v), retirado de Miller & Miller 1988. c: *Blumenavia rhacodes*, foto de López&García 2012.

O gênero *Blumenavia* está inserido na família Clathraceae. A proposta do gênero foi realizada por Möller em 1895. A espécie tipo é *B. rhacodes* Möller, procedente de Blumenau, Santa Catarina, Brasil, a etimologia do gênero faz referencia à esta localidade. O naturalista alemão Friedrich Alfred Gustav Jobst Möller descreveu quatro novos gêneros de Phallales e oito novas espécies para o Brasil. Parte do material está preservado em álcool no

Herbário Biozentrum Klein-Flottbek (HBG), na Alemanha, a outra foi destruída durante a Segunda Guerra Mundial.

Além do tipo foram descritas outras três espécies: *Blumenavia angolensis* (Welw. & Curr.) Dring (Angola, África), *B. usambarensis* Henn. (Tanzania, África) e *B. toribiotalpaensis* Vargas-Rodr. (Jalisco, México).

Alguns exemplares de *B. rhacodes* foram encontrados no sul do país (Möller 1895; Trierveiler-Pereira *et al.* 2014a). É também observado na Argentina (Domínguez de Toledo 1995), México (López & García 2001, 2012; Vargas-Rodríguez & Vázquez-García 2005; Calonge *et al.* 2007). Calonge *et al.* 2007 reduziu *B. toribiotalpaensis* como sinônimo de *B. rhacodes*, por meio de comparação morfológica. Os caracteres apresentados no trabalho original que separavam as duas espécies são: cor, tamanho dos basidiósporos, disposição da gleba nos braços do receptáculo e seção transversal da coluna. Estes não foram encontrados na revisão do material.

A distribuição mundial de *B. angolensis* compreende a África (Angola: Welwitsch & Currey 1870; Dring 1980; São Tomé: Degreef *et al.* 2013; Desjardin & Perry 2015); Caribe (Dring 1980); América do Norte (Metzler *et al.* 1992); América do Sul (Brasil: Dring 1980; Bononi *et al.* 1981; Meijer 2006. Há um registro no Nordeste Brasileiro (Rodrigues & Baseia 2013), e foi relatado pela primeira vez nos estados de Santa Catarina e Rio Grande do Sul (Trierveiler-Pereira *et al.* 2014b). Dring (1980) reduziu *B. usambarensis* Henn. como sinônimo de *B. angolensis*.

Na chave de identificação para o gênero *Blumenavia* Dring (1980) utiliza a cor do receptáculo, quantidade de colunas e números de tubos. Para Trierveiler-Pereira *et al.* (2014b) é importante a altura do receptáculo e das colunas, a composição do basidioma e também a cor do receptáculo. A cor da volva e distribuição da gleba são variáveis e não devem ser levados em consideração na descrição das diferentes espécies. Foi observado diferenças na posição da gleba: *B. rhacodes* disposta ao longo de toda a parte interior da coluna (Dring 1980; López & García 2001, 2012, Vargas-Rodríguez & Vázquez-García 2005), *B. angolensis*, *B. usambarensis* e *B. toribiotalpaensis* em um quarto ou um terço da parte superior, ou somente restrita à parte superior (Dring & Rayner 1967; Dring 1980; Vargas-Rodríguez & Vázquez-García 2005; Rodrigues & Baseia 2013; Degreef *et al.* 2013).

Algumas espécimens de *B. rhacodes* foram descritas com receptáculo laranja claro à amarelo, seção transversal da coluna triangular e trapezoidal (Dring 1980; Vargas-Rodríguez & Vázquez-García 2005; López & García 2012), mas de acordo Trierveiler-Pereira *et al.* (2014b) nenhuma espécie de *Blumenavia* apresenta cor laranja. *B. angolensis*

foi descrita com receptáculo puramente branco e seção transversal subtriangular ou quadrangular (Dring 1980; Vargas-Rodríguez & Vázquez-García 2005; Trierveiler-Pereira *et al.* 2014b; Degreef *et al.* 2013), e uma espécime coletada no Ceará com receptáculo amarelo claro à laranja e seção semicircular (Rodrigues & Baseia 2013). A seção das colunas de *B. toribotalpaensis*, hoje sinônimo de *B. rhacodes*, é também semicircular, como a espécime do Ceará. Para Trierveiler-Pereira *et al.* (2014b) a espécie descrita para o Nordeste do Brasil como *B. angolensis* representa *B. rachodes*. Dring (1980) relatou diferenças no tamanho dos basidiósporos de algumas espécies de *B. angolensis* da África com os da América.

O gênero não está totalmente esclarecido, a utilização da morfologia não foi claramente suficiente. Há posicionamentos contrários em relação aos caracteres informativos e à identificação das espécies. A padronização da identificação morfológica para o gênero deve ser empregada. Além disso técnicas moleculares serão de extrema importância para a revisão deste gênero. Há duas sequências no Genbank: *B. angolensis* 28S de São Tomé-África (Degreef *et al.* 2013) e *B. rhacodes* ATP6 do Rio Grande do Sul-Brasil (Trierveiler-Pereira *et al.* 2014a).

OBJETIVOS

OBJETIVO GERAL

Revisar as coleções do gênero *Blumenavia* de herbários nacionais e internacionais por meio de análises taxonômicas e moleculares e realizar a identificação de espécimes coletados, a fim de delimitar e identificar as espécies deste gênero e determinar quais caracteres são informativos para separação destas espécies.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Realizar coletas de espécimes de *Blumenavia* no Ceará, Santa Catarina e Paraná.
2. Realizar estudos taxonômicos e moleculares com espécimes obtidos de herbários e de coletas.
3. Gerar árvores filogenéticas a fim de avaliar se os caracteres morfológicos são filogeneticamente informativos e avaliar a classificação do gênero *Blumenavia*;
4. Delimitar e identificar as espécies por meio de literatura especializada e descrever possíveis espécies novas.
5. Reavaliar a verdadeira identidade de *B. usambarensis* e *B. toribotalpaensis*.

MATERIAL E MÉTODOS

Será solicitado o empréstimo de exsicatas de herbários nacionais e internacionais, conforme Tabela 1. A espécie tipo de *Blumenavia rhacodes* está preservada em álcool no Herbarium Hamburgense - Biozentrum Klein-Flottbek (informação obtida por meio do contato com o curador Matthias Schultz). O tipo de *B. angolensis* conta somente com o desenho (Dring 1980). Devido a perda da capacidade de análise morfológica e molecular desses materiais, o empréstimo e as coletas de espécimes localizadas próximo ao local tipo serão suficientes para a descrição.

Tabela 1: Relação de herbários que possuem o gênero *Blumenavia* para empréstimo

Cod. Herbário	Exsicatas	Espécie	Local coleta
PACA-FUNGI	6	<i>Blumenavia rhacodes</i>	RS- Brasil
SP-FUNGI	1	<i>Blumenavia rhacodes</i>	BR
ICN	4	<i>Blumenavia rhacodes</i>	RS- Brasil
UFRN-FUNGI	1	<i>Blumenavia rhacodes</i>	SP-Brasil
BPI	1	<i>Blumenavia rhacodes</i>	Brasil
HBG	1	<i>Blumenavia rhacodes</i>	Brasil
XAL	14(1PARÁTIPO)	<i>Blumenavia toribiotalpaensis</i>	México
BPI	1 (HOLÓTIPO)	<i>Blumenavia toribiotalpaensis</i>	México
IBUG	4 (PARÁTIPO)	<i>Blumenavia toribiotalpaensis</i>	México
LSUM	6 (PARÁTIPO)	<i>Blumenavia toribiotalpaensis</i>	México
UFRN-FUNGI	1	<i>Blumenavia angolensis</i>	CE-BR
MBM	1	<i>Blumenavia angolensis</i>	PR-Brasil
ICN	2	<i>Blumenavia angolensis</i>	RS- Brasil
SFSU	Verificar	<i>Blumenavia angolensis</i>	São Tomé- África
FLOR	1	<i>Blumenavia angolensis</i>	SC-Brasil
BR	1	<i>Blumenavia angolensis</i>	São Tomé – África
K	1	<i>Blumenavia angolensis</i>	Trinidad
K	1	<i>Blumenavia usambarensis</i>	Brasil

Legenda: PACA-FUNGI: Instituto Anchieta de Pesquisas/UNISINOS-RS; SP-FUNGI: Instituto de Botânica; ICN: Universidade Federal do Rio Grande do Sul; UFRN-FUNGI: Universidade Federal do Rio Grande do Norte; BPI: U.S. National Fungus Collections; HBG: Herbarium Hamburgense; XAL: Instituto de Ecología, A.C.- México; IBUG: Universidad de Guadalajara; LSUM: Louisiana State University; MBM: Museu Botânico Municipal- PR; SFSU: San Francisco State University; FLOR: Universidade Federal de Santa Catarina; BR: Botanic Garden Meiser; K: Royal Botanic Gardens.

Os locais de coleta estão dispostos na Tabela 2. Blumenau é a localidade tipo do gênero, após a coleta de *Blumenavia rhacodes* por Möller em agosto de 1891 não foram mais coletadas espécimes deste gênero. Em Florianópolis na Unidade de Conservação Ambiental Desterro foi realizada uma coleta de *B. angolensis* em junho de 2013 por Magnano, AC e em agosto de 2005 uma coleta também de *B. angolensis* foi realizada por

de Meijer, AAR em Antonina no Paraná (Trierveiler-Pereira *et al.* 2014b). No Ceará também foi registrada uma coleta de *B. angolensis* em junho de 2012 por Rodrigues, AC (Rodrigues & Baseia 2013). As demais localidades descritas serão analisadas como forma de ampliar a busca pelo gênero. Pode haver a necessidade de visitar mais de uma vez cada local até que os basidiomas sejam encontrados. As coletas serão realizadas em trilhas pré-existentes, a busca por *Blumenavia* será de forma livre e mata adentro quando possível. Ao serem observados os espécimes encontrados serão fotografados e posteriormente coletados com auxílio de um canivete. Serão armazenados em caixas plásticas com compartimentos individualizados, conforme metodologia adotada por especialistas do grupo (Lodge *et al.* 2004). No campo características macroscópicas como cor, tamanho, textura e número de tubos no interior do receptáculo serão analisados, estes caracteres são modificados após a secagem. As medidas serão obtidas com um paquímetro de precisão e as cores serão determinadas seguindo o guia de cores de Körnerup & Wanscher (1978). Serão retiradas partes internas e externas do basidioma fresco, sendo separados e estocados em sílica gel para extrações de DNA. Após essas análises preliminares os basidiomas serão secos em desidratador elétrico à temperatura aproximada de 40°C, durante cerca de 48 horas, e acondicionados em sacos plásticos, etiquetados.

Tabela2: Locais de coleta

Local	Hectares	Município	Estado brasileiro
APA da Serra de Baturité	32.690	Guaramiranga	Ceará
Parque Natural Municipal São Francisco de Assis	23	Blumenau	Santa Catarina
Parque Natural Municipal Nascentes do Garcia	5.296,16	Blumenau	Santa Catarina
Parque Zooobotânico	100	Joinville	Santa Catarina
UCAD - Unidade de Conservação Ambiental Desterro	490	Monte Verde, Florianópolis	Santa Catarina
RPPN Estadual Reserva Natural Rio Cachoeira	4.292,88	Antonina	Paraná
Parque Estadual Mata dos Godoy	690,1756	Distrito do Espírito Santo, Londrina	Paraná
Parque Estadual João Paulo II	4,63 ha	Curitiba	Paraná
Parque Florestal de Ibiporã	74,06	Ibiporã	Paraná

As análises de microscopia serão realizadas no Laboratório de Biologia de Fungos do Departamento de Botânica e Zoologia/UFRN, com o auxílio de microscópios para análise

do formato e tamanho dos esporos e das hifas do receptáculo, da volva e da rizomorfa, com a preparação de lâminas em KOH 5%, e se necessário utilização de corante Vermelho Congo. Lupas para verificar a textura do receptáculo, o posicionamento da gleba, a forma dos glebíferos, textura da volva, e outros caracteres que podem ser relevantes. Em ambas análises fotos serão registradas por meio da câmera acoplada ao microscópio e à lupa. Adicionalmente, será utilizada microscopia eletrônica de varredura (MEV) nos Laboratórios de Geoquímica/UFRN. Ao final das análises os materiais serão tombados preferencialmente nos herbários dos locais de coleta com duplicatas no Herbário UFRN-Fungos.

Para as espécimes de herbário as observações macro e microscópicas serão realizadas igualmente ao citado anteriormente, retirando a parte da análise do basidioma fresco. A extração de DNA será realizada a partir do basidioma seco.

As extrações de DNA e ampliações das PCRs serão realizadas no Laboratório de Biologia Celular e Genética de Plantas no Departamento de Biologia Celular e Genética-UFRN, seguindo o protocolo do Kit de Extração QIAGEN. As sequências serão obtidas a partir de três loci: a região espaçadora interna transcrita nrDNA (ITS: ITS1 + 5.8 + ITS2); o fragmento D1-D2 nrDNA (LSU) e ATPase subunidade 6 (ATP6).

Para as ampliações de PCR será seguido o protocolo do Kit *PCB Beads* (*GE Healthcare*), e os programas testados seguem Bates *et al.* (2009). Os primers para cada uma das regiões serão: o par ITS5/ITS4 (White *et al.* 1990), para ITS; o par LR0R/LR5 (Vilgalys & Hester 1990) para LSU; e o par *atp6-3/atp6-2* (Kretzer & Bruns 1999), para ATP6. A purificação dos produtos da amplificação será feita com kit de purificação (QIAGEN). O sequenciamento dos fragmentos da PCR será realizado na Macrogen. Todas as sequências obtidas no presente estudo serão depositados no GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>).

As sequências consenso serão submetidas à busca por similaridade na GenBank, utilizando o programa “Basic Local Alignment Search Tool”, onde será verificado se as sequências produzidas assemelham-se as regiões comparadas. As sequências geradas e as retiradas do GenBank serão alinhadas e editadas manualmente com auxílio do softwares específicos disponíveis para download livre na internet.

As espécies utilizadas como grupo externo serão escolhidas de acordo com Bates *et al.* (2009). Para a escolha do modelo de substituição será utilizado o programa MrModelTest (<http://acari.myspecies.info/content/mrmodeltest-v2-program-distributed-author>). O programa PAUP com a interface gráfica PaupUp, será utilizado para análise de Máxima Parcimônia e a análise Bayesiana, será utilizado o programa MrBayes. No PaupUP, serão calculadas as árvores com o método de máxima parcimônia e busca heurística, onde

os valores de suporte do nós (“bootstrap”-BP) serão calculados com repetição de 1000 vezes. Análises de máxima verossimilhança se realizarão com RAxML-HPC2 em XSEDE mediante o portal CIPRES Science Gateway (Miller *et al.* 2010).

A visualização e edição dos dendogramas será realizado com auxílio do TreeView e FigTree (<http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/>). Estes programas poderão ser substituídos se houver necessidade.

VIABILIDADE DO PROJETO

O Projeto de Mestrado conta com recursos do projeto Professor Visitante Especial/ CNPq (Processo 407474/2013-7) para os estudos moleculares. Além disso, dispomos de todos os equipamentos necessários para a execução dos estudos morfológicos e moleculares nos laboratórios mencionados anteriormente. Adicionalmente, teremos o apoio nos estudos moleculares da Prof^a Dra^a María Paz Martín, do Real Jardim Botânico de Madrid-Espanha, que estará na UFRN no período de julho/agosto de 2016.

RESULTADOS ESPERADOS

Espera-se definir os caracteres informativos para esclarecer a posição das espécies do gênero *Blumenavia*, por meio de ferramentas morfológicas e moleculares. Todos esses conhecimentos permitirão compreender mais acerca dos fungos gasteroides, o que permitirá um aumento da conservação dessas espécies.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alexopoulos C. J., Mims C. W. & Blackwell M. 1996. **Introductory Mycology**. 4ed. Nova York, John Wiley & Sons, 868 p.
- Baseia I. G., Silva B. D. B. & Cruz R. H. S. F. (eds.) 2014. **Fungos Gasteroides no Semiárido do Nordeste Brasileiro**. Rio Grande do Norte-Brasil, Print Mídia, 132 p.
- Bates S. T., Roberson R. W. & Desjardin D. E. 2009. Arizona gasteroid fungi I: Lycoperdaceae (Agaricales, Basidiomycota). **Fungal Diversity** **37**:153-207.
- Bononi V. L. R., Trufem S. F. B. & Grandi R. A. P. 1981. Fungos macroscópicos do Parque Estadual das Fontes do Ipiranga depositados no Herbário do Instituto de Botânica. **Rickia** **9**: 37-53.
- Cabral T. S., Marinho P., Goto B. T. & Baseia I. G. 2012. *Abrachium*, a new genus in the Clathraceae, and Itajahya reassessed. **Mycotaxon** **119**: 419-429.
- Calonge F. D., Guzmán G., Ramírez-Guillén F. & Gándara E. 2007. Adiciones al catálogo de Gasteromycetes de México, con referencia especial a los géneros *Blumenavia* y *Tulostoma*. **Boletín de la Sociedad Micológica de Madrid** **31**: 151-155.
- Degreef J., Amalfi M., Decock C. & Demoulin V. 2013. Two rare Phallales recorded from São Tomé. Cryptogamie. **Mycologie** **34**: 3-13. 3

- Desjardin D. E. & Perry B. A. 2015. Clavarioid fungi and Gasteromycetes from Republic of São Tomé and Príncipe, West Africa. **Mycosphere** 6(5): 515–531.
- Domínguez de Toledo L. S. 1995. Gasteromycetes (Eumycota) del centro y oeste de la Argentina. II. Orden Phallales. **Darwiniana** 33(1-4): 195–210.
- Dring D. M. 1980. Contributions towards a rational arrangement of the Clathraceae. **Kew Bulletin** 35: 1-96.
- Dring D. M. & Rayner R. W. 1967 Some Gasteromycetes from Eastern Africa. **J. E. Afr. nat. Hist. Soc.** 26(2):5-46.
- Ellis M. B. & Ellis J. P. 1990. **Fungi without gills (hymenomycetes and gasteromycetes). An identification handbook.** Chapman and Hall, 329 p.
- Fischer E. 1898–99 [“1900”] Phallineae, p. 76-108. *In*: Engler A. & Prantl K. (eds). **Die natürlichen Pflanzenfamilien.** Berlin, Duncker & Humblot.
- Hibbet D. D., Bauer R., Binder M., Gianchini A. J., Hosaka K., Justo A., Larsson E., Larsson K. H., Lawrey J. D., Miettinen O., Nagy L. G., Nilsson R. H., Weiss M. & Thorn R. G. 2014. Agaricomycetes, p. 373-429. *In*: McLaughlin D.J. & Spatafora J.W (eds.) **The Mycota: Systematic and Evolution. Part A.** Berlin, Springer Verlag, vii+366 p.
- Hosaka K., Bates S.T., Beever R.E., Castellano M.A., Colgan W., Dominguez S., Nouhra E.R., Geml J., Giachini A.J., Kenney S.R., Simpson N.B., Spatafora J.W. & Trappe J.M.. 2006. Molecular phylogenetics of the gomphoid-phalloid fungi with an establishment of the new subclass Phallomycetidae and two new orders. **Mycologia** 98(6): 949-959.
- Kornerup A. & Wanscher J. H. 1978. **Methuen Handbook of Colours.** 3ed. Londres, Eyre Methuen, 252 p.
- Kretzer A. & Bruns T. D. 1999. Use of atp6 in fungal phylogenetics: an example from the Boletales. **Mol Phylogenet Evol** 13:483-492.
- 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., Ryvarde, L., Leacock, P. R., Mata, M., Umaña, L., Wu, Q., Czederpiltz, D. L. 2004. Terrestrial and lignicolous macrofungi, p. 127-172. *In*: Mueller G. M., Bills G. F., Foster M. S. (eds.) **Biodiversity of fungi: Inventory and monitoring methods.** Boston, Elsevier Academic Press. 772 p.
- López A. & García J. 2001. *Blumenavia rhacodes*. **Funga Veracruzana** 33: 1-2.
- López A. & García J. 2012. *Blumenavia rhacodes* II. **Funga Veracruzana** 134: 1-2.
- Meijer A. A. R. de 2006. Preliminary list of the macromycetes from the Brazilian State of Paraná. **Boletim do Museu Botânico Municipal (Curitiba)** 68: 1-55.
- Metzler S., Metzler V. & Miller Jr. O. K. 1992. **Texas mushrooms.** Austin-Texas, University of Texas Press, 350 p.
- Miller O. K. J. & Miller H. H. 1988. **Gasteromycetes: Morphological and Development Features.** California, Eureka, Mad River Press, 157 p.
- Miller M. A., Pfeiffer W. & Schwartz, T. 2010. Creating the CIPRES Science Gateway for inference of large phylogenetic trees, 1-8 p. *In*: **Proceedings of the Gateway Computing Environments Workshop (GCE),** 2010, New Orleans, L. A.
- Möller A. 1895. **Brasilische Pilzblumen.** Botanische Mitteilungen aus den Tropen, vii+152 p.
- Pegler D. N. & Gomez L. D. 1994. An unusual member of the cage fungus family. **Mycologist** 8: 54-59.
- Pegler D. N., Laessoe T. & Spooner B. M. 1995. **British Puffballs, Earthstars and Stinkhorns: An Account of the British Gasteroid Fungi.** Kew: Royal Botanic Gardens, 255 p.
- Rodrigues A. C. M. & Baseia I. G. 2013. *Blumenavia angolensis* (Clathraceae), a rare phalloid reported from Northeastern Brazil. **Mycosphere** 4(6): 1066-1069.
- Trierveiler-Pereira L., Silveira, R. M. B. & Hosaka K. 2014a. Multigene phylogeny of the Phallales (Phallomycetidae, Agaricomycetes) focusing on some previously unrepresented genera. **Mycologia** 106 (5): 904-911.
- Trierveiler-Pereira L., Alves C. R. & Silveira R. M. B. 2014b. The genus *Blumenavia* (Clathraceae, Phallales). **Mycosphere** 5(3): 496-501.
- Vargas-Rodríguez Y. L. & Vázquez-García J. A. 2005. *Blumenavia toribiotarpaensis*: a new species of Clathraceae from Jalisco, Mexico. **Mycotaxon** 94: 7-14.

- Vilgalys R. & Hester M. 1990. Rapid genetic identification and mapping of enzymatically amplified DNA from several *Cryptococcus* species. **J Bacteriol** **172**:4238-4246.
- Webster J. & Weber R. 2007. **Introduction to fungi**. 3. ed. Nova York, Cambridge University Press. 841 p.
- Welwitsch F. & Currey F. 1870. Fungi Angolenses. A description of the fungi collected by Dr. Friedrich Welwitsch in Angola during the years 1850-1861. Part I. **Transactions of the Linnean Society of London** **26**, 279–294.
- White T. J., T. Bruns, S. Lee, and J. W. Taylor. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics, p. 315-322. *In*: Innis, M. A., Gelfand D. H., Sninsky J. J. & White T. J. (eds.) **PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications**, Academic Press, Inc., New York.

ANEXOS

ORÇAMENTO

Descrição	Quant.	Valor unit.	Valor total
Análises Morfológicas			
Maletas plásticas para coleta	2	19,00	38,00
Saco plástico <i>ziplock</i> para armazenar para fungos coletados	100un	7,50	7,50
Reagentes para laboratório (Azul de algodão, KOH, Vermelho congo)	25 g	392,00	*
Lâminas e lamínulas	01cx c/50	16,00	16,00
Diárias para coletas	9	320,00	2880,00
Passagens aéreas nacionais	2	1500,00	3000,00
Total análises morfológicas			5949,50
Análises Moleculares			
Kit Extração QIAGEN DNesy Plant Mini Kit (50 reações)	1cx	1110,90	1110,90
Reagente para PCR- PCRBeads	1cx	700,00	700,00
Primers (valor aproximado)	6	110,00	660,00
Kit para purificação de produtos de PCR QIAGEN (50 reações)	1	534,00	534,00
Consumíveis plásticos (ponteiros, microtubos, luvas de látex, rack p/ microtubos).	–	–	1.000,00
Serviço de sequenciamento de DNA (empresa Macrogen Inc.) – valor em dólares: 5 dólares por unidade	20,00	50	1000,00
Total análises moleculares			5004,90
TOTAL			10954,40

*: Materiais já disponíveis no Laboratório de Biologia de Fungos/UFRN.

CRONOGRAMA

ATIVIDADES	2016		2017		2018
	1ºsem	2ºsem	1ºsem	2ºsem	1ºsem.
Levantamento bibliográfico	X	X	X	X	
Solicitação de empréstimo de herbários	X				
Análise morfológica dos espécimes	X	X	X		
Análise molecular dos espécimes (extração, amplificação, sequenciamento)	X	X	X		
Análise das sequências			X		
Coleta no Ceará	X				
Coleta em Santa Catarina e Paraná		X			
Depósitos do material no herbário UFRN-fungos				X	
Redação da dissertação	X	X	X	X	
Entrega e Defesa da Dissertação					X