



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA

Departamento de Botânica (BOT)



Programa de Pós-Graduação em Biologia de Fungos Algas e Plantas (PPGFAP)

Laboratório de Micologia (MICOLAB-UFSC)

Orientadora: Profa. Dra. Maria Alice Neves

Doutoranda/Proponente: Me. Maria Eduarda de Andrade Borges

O seguinte projeto se refere a parte do projeto de pesquisa de doutorado intitulado “O gênero *Mycena* (Agaricales, Mycenaceae): diversidade de espécies bioluminescentes do gênero na Mata Atlântica do sul do Brasil e aspectos do conhecimento de espécies micorrízicas na região neotropical”.

PROJETO DE PESQUISA

A floresta brilhante: estudos taxonômicos e moleculares das *Mycena* (Agaricales, Mycenaceae) bioluminescentes da Mata Atlântica do sul do Brasil

1. INTRODUÇÃO

A Mata Atlântica vem sofrendo forte fragmentação. Ela tem apenas 27% a 29% da sua cobertura vegetal original, sendo que somente 12% a 17% dos remanescentes estão em bom estado de conservação (Ponzoni *et al.*, 2019). Por se encontrar em regiões altamente populosas do país, a Mata Atlântica tem sofrido uma redução territorial contínua devido, principalmente, às ações antrópicas (MMA, 2015). Mesmo com a alta fragmentação, a Mata Atlântica é considerada uma área prioritária para a conservação da biodiversidade (Ribeiro *et al.*, 2011), visto que abriga não apenas uma grande diversidade de flora e fauna, mas também da funga, com a maioria das espécies ainda desconhecida. Assim, é de extrema importância realizar estudos que visem compreender e conservar a biodiversidade deste domínio fitogeográfico com o intuito de entender os processos envolvidos na dinâmica das comunidades aí inseridas, principalmente no que se diz respeito aos fungos.

De acordo com a Flora e Funga do Brasil (2023) há registro de 2991 espécies de fungos (*sensu stricto*) na Mata Atlântica, número pequeno quando comparado à diversidade de fungos estimada mundialmente [2.2 a 3.8 milhões de espécies (Hawksworth & Lücking, 2017)] e ao número de espécies de fungos já descritos para a ciência [cerca de 148 mil espécies (Paton *et al.*, 2020)]. Quando projetamos esse número para a diversidade de fungos bioluminescentes, vemos que ele não reflete a real diversidade desses organismos. Há 111 espécies descritas de fungos bioluminescentes para o mundo, considerando o trabalho de Chang *et al.* (2020) que cita 108 espécies fúngicas registradas como bioluminescentes, somado aos registros de Karunarathna *et al.* (2020), Dauner *et al.* (2021) e Oliveira *et al.* (2021) que incluem uma nova espécie em

cada artigo. O gênero *Mycena* possui o maior número de táxons bioluminescentes descritos, somando 71 espécies [62 citados e 4 novas espécies descritas por Cortés-Pérez *et al.* (2019) + 3 novas espécies descritas por Karunarathna *et al.* (2020), Dauner *et al.* (2021) e Oliveira *et al.* (2021)].

Apesar do número crescente de trabalhos com bioluminescência fúngica, acredita-se que os registros existentes são, provavelmente, muito menores do que a real diversidade de espécies emissoras de luz. O baixo registro pode estar associado com o fato da luz emitida ser muito sutil para ser percebida a olho nu (Bermudes *et al.*, 1992), e exigir ambientes com a menor interferência de iluminação externa possível. Ainda, os taxonomistas raramente observam os espécimes coletados no escuro, podendo descrever espécies sem notar a bioluminescência (Desjardin *et al.*, 2007). Desta forma, acredita-se que existem muitas espécies já descritas cuja bioluminescência nunca foi evidenciada.

No Brasil um dos primeiros registros documentados de fungos bioluminescentes foi feito por George Gardner, um botânico escocês que veio ao país para coletar organismos para estudo (Gardner, 1942; de Ventura *et al.*, 2015). A espécie descrita por Gardner é *Neonothopanus gardneri* (Berk. ex Gardner) Capelari, Desjardin, B.A. Perry, T. Asai & Stevani. De acordo com Stevani (comunicação pessoal, 27 de janeiro de 2022) já foram registrados no Brasil mais de 29 espécies bioluminescentes de fungos (algumas ainda não publicadas), e, levando em conta as espécies já publicadas, 21 pertencem ao gênero *Mycena* (Desjardin *et al.*, 2016; Borges, 2020; Oliveira *et al.*, 2021). A maior parte dos registros de *Mycena* bioluminescentes no Brasil são para fragmentos de Mata Atlântica (Desjardin *et al.*, 2016; Borges, 2020), porém eles correspondem a aproximadamente 0,7% da funga conhecida para este domínio fitogeográfico. Os registros de *Mycena* bioluminescentes na Mata Atlântica se concentram principalmente nos estados de São Paulo (Desjardin *et al.*, 2007; 2010; 2016) e Paraná (Desjardin *et al.*, 2007; 2010; 2016; de Meijer, 2010). Apesar de a região sul do Brasil abrigar dois dos maiores fragmentos contínuos de vegetação nativa da Mata Atlântica (Ribeiro *et al.*, 2009), essa região continua subamostrada. Borges (2020), num trabalho realizado em fragmentos de Mata Atlântica de Santa Catarina, apresentou uma perspectiva de ampliação da distribuição e novos registros de *Mycena* bioluminescentes.

Dentre as espécies de *Mycena* bioluminescentes registradas para o Brasil, a distribuição de *Mycena globulispora* Maas Geest. & de Meijer tem sido bastante ampliada. O táxon foi coletado pela primeira vez em 1994 no Paraná (Maas Geesteranus & de Meijer, 1997), posteriormente Desjardin *et al.* (2016) ampliaram a distribuição para São Paulo, Cortés-Pérez *et al.* (2019) registraram o táxon para Veracruz (México) e Borges (2020) registrou a ocorrência para Santa Catarina. Algumas diferenças macro e micromorfológicas foram observadas ao comparar a descrição do holótipo com espécimes das demais localidades onde ocorre *M. globulispora* (Borges, 2020). Apesar das diferenças morfológicas, na reconstrução filogenética de Inferência Bayesiana baseada na região nrITS feita por Borges (2020), todas as sequências de DNA disponíveis em bancos de dados identificadas como *Mycena globulispora* formaram um clado com alto suporte. Entre essas sequências estavam representantes de *M. globulispora* coletados em São Paulo, Veracruz e Santa Catarina. A falta de recoletas na localidade tipo e de sequências de DNA do holótipo ou de materiais coletados na localidade do tipo dificultam

a compreensão da variedade morfológica encontrada por Borges (2020) em *Mycena globulispora*.

Em contramão à variedade morfológica encontrada entre espécimes de *Mycena globulispora* das diferentes localidades onde o táxon foi registrado, *M. fera* Maas Geest. & de Meijer é um táxon que apresenta alta similaridade morfológica com *M. globulispora*. Ambos os táxons foram registrados pela primeira vez no estado do Paraná, e apresentam como principal diferença o tamanho e quantidade de divertículos encontrados nos queilocistídios. Analisar cuidadosamente a morfologia, assim como analisar mais espécimes de *M. fera* e *M. globulispora*, principalmente dos holótipos ou de espécimes coletados na localidade do tipo, podem ajudar a entender suas similaridades e diferenças. Além disso, é necessário testar filogeneticamente a relação entre *Mycena fera* e *M. globulispora*, incluindo sequências dos holótipos e demais localidades onde foram registrados os táxons. Porém não há sequências de *M. fera* nos bancos de dados. Visto a variação morfológica observada em *Mycena globulispora* e a similaridade encontrada entre este táxon e *M. fera*, é necessário um estudo que busque a delimitação morfológica de *M. globulispora* e que posteriormente teste a relação entre este táxon e *M. fera*. Desta forma, como citado por Borges (2020), é importante revisar os tipos de ambos os táxons, analisar espécimes herborizados, recoletar materiais nas localidades tipos e gerar sequências destes materiais de referência.

2. JUSTIFICATIVA

A bioluminescência é uma característica que vem sendo amplamente estudada no gênero *Mycena*, visto que este é o gênero com maior número de táxons registrados como bioluminescentes. O Brasil é um país que tem se destacado no cenário internacional com publicações de novas espécies bioluminescentes e contribuindo para o entendimento bioquímico da bioluminescência em fungos. Apesar dos crescentes novos registros de espécies bioluminescentes no país, a maioria dos registros são para a região sudeste, principalmente no estado de São Paulo, e alguns poucos registros para a região sul, no estado do Paraná. Pretende-se com o presente projeto ampliar os registros de *Mycena* bioluminescentes para localidades ainda não exploradas da Mata Atlântica, principalmente no sul do Brasil.

Um estudo sistemático com as *Mycena* bioluminescentes vem sendo desenvolvido pela proponente desde 2016, junto ao MICOLAB, com resultados preliminares apresentados no trabalho de conclusão de curso (TCC), na dissertação de mestrado e em eventos nacionais e internacionais. O presente projeto tem como propósito dar continuidade ao estudo de *Mycena* bioluminescentes. A área de estudo que se restringia à região da Grande Florianópolis (Santa Catarina) será ampliada para a Mata Atlântica do sul do Brasil. Serão incorporadas análises filogenéticas com o intuito de elucidar as relações evolutivas dos táxons bioluminescentes brasileiros de *Mycena* com táxons de outras localidades.

Será, também, conduzido um estudo de caso com *Mycena globulispora* e *M. fera*. A distribuição de *Mycena globulispora* vem sendo ampliada através de estudos com fungos bioluminescentes, porém estes mesmo estudos têm relatado uma diversidade morfológica

entre os espécimes coletados em diferentes localidades. Acredita-se que no decorrer deste projeto seja possível definir qual morfologia delimita *M. globulispora* e ponderar sobre as variedades morfológicas encontradas. Ainda, *Mycena fera* é um táxon morfológicamente similar a *M. globulispora*. Com o desenvolvimento deste projeto, acreditamos ser possível compreender a relação entre *Mycena fera* e *M. globulispora* com embasamento morfológico e molecular.

Estudos como o do presente projeto são essenciais para o conhecimento da biodiversidade do Brasil e do mundo. Assim, trazemos a proposta de conhecer mais a diversidade de fungos (funga) do Brasil, organismos que são negligenciados em estudos de impacto ambientais e restauração de ecossistemas. O conhecimento da funga é extremamente importante perante às diversas perdas de florestas que o Brasil vem sofrendo ao longo dos anos. O planejamento de estratégias que visem o combate à perda da biodiversidade depende da funga decompositora e da funga associada a raízes das plantas. A bioluminescência em cogumelos chama a atenção do público e pode ser utilizada como estratégia para a preservação de ecossistemas, na promoção da educação ambiental e do desenvolvimento sustentável.

Nossos resultados fornecerão ao poder público informações científicas sobre a funga do Brasil de forma a facilitar planos de preservação da Mata Atlântica nos estados onde os espécimes forem coletados. Desta forma, esperamos com este projeto contribuir para o alcance de um dos Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS) da Organização das Nações Unidas (ONU) no que diz respeito a “proteger, recuperar e promover o uso sustentável dos ecossistemas terrestres, gerir de forma sustentável as florestas, combater a desertificação, deter e reverter a degradação da terra e deter a perda de biodiversidade” (Objetivo 15 – Vida Terrestre).

3. OBJETIVOS

3.1. OBJETIVO GERAL

Compreender morfológica e filogeneticamente as espécies bioluminescentes de *Mycena* que ocorrem na Mata Atlântica contribuindo para estudos sistemáticos do gênero.

3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Estudar morfológicamente as espécies bioluminescentes de *Mycena* da Mata Atlântica do Brasil;
- Identificar a qual clado (/hydropoid ou /Mycenaceae) os táxons de *Mycena* bioluminescentes da Mata Atlântica pertencem;
- Analisar a relação filogenética entre os táxons brasileiros de *Mycena* bioluminescentes com os demais táxons de *Mycena* registradas para o mundo;
- Delimitar morfológicamente *Mycena globulispora* através de um estudo morfológico minucioso;
- Gerar sequências de DNA de espécimes de referência de *M. globulispora* e *M. fera* das localidades dos tipos;

- Comparar morfológicamente e filogeneticamente *M. globulispora* e *M. fera*, a fim de entender a relação entre esses táxons.

4. METODOLOGIA

O projeto está previsto para ser executado no período de 1 ano, com relação as coletas de espécimes. Sendo finalizado oficialmente com o término do período do projeto de doutorado em maio/2025.

4.1. ÁREA DE ESTUDO

As incursões de coletas serão realizadas em Unidades de Conservação que contemplem áreas de Mata Atlântica, e em áreas conservadas de Mata Atlântica localizadas em residências e reservas particulares, conforme autorização dos proprietários (Tabela 1). Visto a necessidade de infraestrutura para o processamento dos espécimes coletados logo após a realização das coletas, os locais para realização das incursões foram selecionados conforme o atendimento destas necessidades, além da disponibilidade de alojamentos, centros de visitantes ou proximidade a locais para hospedagem. Ainda que esteja sendo solicitada autorização de coleta nas UCs (Tabela 1), é possível que não sejam realizadas coletas em todas, por questões de cronograma de coleta, condições climáticas e recursos financeiros disponíveis ao longo do desenvolvimento do projeto.

Tabela 1. Unidades de Conservação (UCs), reservas e residências particulares onde pretende-se realizar as incursões de coleta do presente projeto de doutorado.

UCs Paraná	UCs Santa Catarina	UCs Rio Grande do Sul	Reservas e residências particulares
PE de Amaporã	MONA Municipal da Lagoa do Peri	ESEC Estadual Aratinga	Pousada Vitória (SC)
Parque Barigui ¹	PE Acaraí	PE de Espigão Alto	RPPN Rio das Furnas (SC)
PE do Guartelá	PE da Serra do Tabuleiro	PE Delta do Jacuí	Sítio Pedras Vivas (SC)
PE de Ibicatu	PE da Serra Furada	PE do Papagaio Charão	Sítio Borboleta Azul (SC)
PE Mata dos Godoy	PE das Araucárias	PE Quarta Colônia	
PE do Palmito	PE do Rio Vermelho	PNM Longines Malinowski	
PE Pico do Marumbi ²	PE Fritz Plaumann	REBIO da Serra Geral	
PE Pico do Paraná	PE Rio Canoas	REBIO Estadual Mata Paludosa	
PE Rio da Onça	REBIO Estadual da Canela Preta		
PE Salto São Francisco da Esperança	REBIO Estadual do Aguai		
PE Serra da Baitaca	REBIO Estadual do Sassafrás		

Legenda: ESEC— Estação Ecológica; MONA— Monumento Natural; PE— Parque Estadual; PNM— Parque Natural Municipal; REBIO— Reserva Biológica; RPPN— Reserva Particular do Patrimônio Natural.

¹ Localidade do tipo de *Mycena fera*.

² Localidades dos tipos de *Mycena globulispora*.

Embora as *Mycena* bioluminescentes sejam o grupo taxonômico de enfoque do trabalho, existe a possibilidade de outros táxons bioluminescentes também serem coletados e identificados, visto que o gênero *Mycena* apresenta morfologia conflitante e que se sobrepõe a de outros gêneros que têm espécies que produzem bioluminescência. Além disso outros táxons de interesse poderão ser coletados como espécimes de gêneros conhecidamente formadores de associações ectomicorrízicas ou pertencentes a família Hygrophoraceae Lotsy.

Devido aos materiais que serão coletados serem espécimes fúngicos (cogumelos), assim, sendo difícil de precisar a quantidade que será coletada, pois os fungos são organismos efêmeros e que dependem de condições ambientais/climáticas para serem encontrados, estima-se a coleta de 30 espécimes por UC. Além disso, devido as condições climáticas que usualmente facilitariam para encontrar e coletar basidiomas bioluminescentes, como chuva seguida de dias quentes e noite de lua nova, o cronograma de permanência nas UCs (Tabela 2) do estado do Paraná pode acabar sofrendo alterações. As datas previstas no cronograma seguem o calendário lunar de lua nova, porém podem ser adiadas para os meses seguintes: março/2024 a setembro/2024. Prevemos cerca de duas noites por UCs afim de explorar diferentes áreas para realizar as coletas.

Tabela 2. Cronograma previsto do período de permanência nas UCs do estado do Paraná referente ao projeto de pesquisa “A floresta brilhante: estudos taxonômicos e moleculares das *Mycena* (Agaricales, Mycenaceae) bioluminescentes da Mata Atlântica do sul do Brasil”.

Rotas	UCs	2023				2024							
		Out	Nov	Dez	Jan	Fev	Mar	Abr	Mai	Jun	Jul	Ago	Set
							10 a 16/03	8 a 14/04	8 a 14/05	6 a 13/06	5 a 12/07	4 a 11/08	2 a 10/09
1	PE Rio da Onça	14 a 15/10											
	PE do Palmito	15 a 16/10											
	PE Pico do Marumbi	16 a 19/10				09 a 12/02							
	PE Pico do Paraná	19 a 20/10											
	Parque Barigüi		13 a 15/11			12 a 15/02							
2	PE Serra da Baitaca		15 a 17/11										
	PE Pico do Paraná		17 a 18/11										
3	PE do Quartelá			12 a 14/12									
	PE Salto São Francisco da Esperança			14 a 17/12									
	PE Mata dos Godoy				11 a 13/01								
4	PE de Ibicatu				13 a 15/01								
	PE de Amaporã					15 a 17/01							

4.2. COLETA E PROCESSAMENTO DE ESPÉCIMES

As incursões de coleta acontecerão majoritariamente no período noturno, preferencialmente durante noites de lua nova, para melhor visualização da luz emitida

pelos basidiomas. Algumas incursões a campo poderão ser realizadas no período diurno para reconhecimento da área e mapeamento de localidades mais propícias para achar os basidiomas bioluminescentes. Os basidiomas bioluminescentes encontrados, serão coletados com o auxílio de lanterna com luz vermelha, para evitar a supraexcitação da retina, e um canivete. Os espécimes serão armazenados junto com o substrato em caixas plásticas com divisórias. Ainda em local escuro os espécimes serão fotografados com a utilização de iluminação para o registro da macromorfologia dos basidiomas, e sem iluminação sob exposição de 30 a 50 segundos para o registro da bioluminescência.

Os espécimes coletados serão analisados nas sedes de processamento dos locais de coleta, onde serão descritas as características macromorfológicas dos basidiomas ainda frescos. Fragmentos dos basidiomas serão removidos para a etapa de estudos moleculares, sendo acondicionados em pequenos envelopes de papel manteiga e guardados em sacos plásticos com sílica-gel hermeticamente fechados. Posteriormente, os espécimes serão então desidratados em desidratadora de alimentos portátil, com circulação de ar, a até 40°C até que os basidiomas estejam completamente desidratados. Os basidiomas secos serão acondicionados em sacos hermeticamente fechados para impedir a reabsorção de umidade pelos basidiomas e garantir a preservação dos materiais para que possam ser estudados micromorfológicamente. Todos os espécimes coletados serão tombados e inseridos na coleção do Fungário e Herbário FLOR da Universidade Federal de Santa Catarina.

Espécimes depositados em herbários nacionais identificados como táxons reconhecidos como bioluminescentes serão revisados, de tal forma que servirão como material comparativo para os espécimes coletados ao longo do desenvolvimento do projeto. Os herbários para os quais serão solicitados empréstimos são: PACA (Rio Grande do Sul), Micoteca do Herbário da Universidade de Caxias do Sul (Rio Grande do Sul), MBM (Paraná) e SP (São Paulo). Os acrônimos dos herbários estão de acordo com Thiers (atualizado continuamente). As análises dos empréstimos seguirão as normas e procedimentos estabelecidos pela instituição fornecedora do empréstimo e os métodos descritos acima. Quando necessário e for seguro, serão realizadas viagens de visita aos fungários para estudo de materiais que não possam ser enviados via empréstimos para o Fungário e Herbário FLOR. Todos os espécimes que serão estudados serão cadastrados no SisGen, Decreto nº 8.772, de 11 de maio de 2016, que regulamenta a Lei da Biodiversidade Brasileira, Lei nº 13.123, de 20 de maio de 2015.

4.3. ANÁLISES MACRO E MICROMORFOLÓGICAS

As descrições macromorfológicas dos espécimes serão feitas a partir dos basidiomas ainda frescos, e seguirão as metodologias clássicas conhecidas para macrofungos descritas por Largent (1986) e Largent *et al.* (1977). O guia de cor Kornerup & Wanscher (1978) será utilizado para referenciar as cores dos basidiomas.

Após desidratados os materiais serão descritos micromorfológicamente. A descrição micromorfológica será feita a partir de cortes dos basidiomas feitos à mão livre com uma lâmina cortante. Os cortes serão montados em lâminas com KOH 3%, reagente de Melzer, Vermelho Congo ou Floxina, seguindo a preparação de Largent *et al.* (1977). As estruturas

serão observadas em microscopia de luz no microscópio Leica DM500 e medidas (n=20) na objetiva de 1000x utilizando uma régua micrométrica acoplada ao microscópio.

Análises estatísticas serão feitas a partir das medições dos basidiósporos seguindo a metodologia descrita por Perry (2002), onde x_m é a média aritmética do comprimento pela largura do basidiósporo (\pm desvio padrão) de n esporos medidos em um único espécime; x_{mr} o intervalo das médias dos basidiósporos; x_{mm} a média dos valores de x_m (\pm desvio padrão) quando mais de um espécime for analisado; Q é o quociente do comprimento e largura dos basidiósporos em qualquer esporo, indicado como uma variação em n esporos medidos; Q_m a média dos valores de Q em um único espécime; Q_{mr} o intervalo dos valores de Q_m ; Q_{mm} a média dos valores de Q_m quando mais de um espécime for analisado; n é o número de basidiósporos medidos por espécime.

4.4. ANÁLISES FILOGENÉTICAS

Os processos de extração e amplificação do DNA serão realizados no Laboratório de Biologia Molecular do Laboratório Multiusuário de Estudos em Biologia (LAMEB), localizado no Dep. de Botânica da UFSC. A extração de DNA total dos espécimes será realizada utilizando o método CTAB e seguirá o protocolo padrão utilizado no LAMEB. Serão amplificadas as regiões nrITS (*nuclear ribosomal internal transcribed spacer*) e nrLSU (*nuclear ribosomal large subunit*) através de reações de PCR (*Polymerase Chain Reaction*). A purificação dos produtos será feita utilizando polietilenoglicol 20% (PEG) e, posteriormente, a etapa de sequenciamento das amostras será feita por empresa especializada.

Matrizes para o alinhamento serão criadas utilizando as sequências geradas ao longo do projeto e sequências adicionais disponíveis no banco de dados GenBank (Benson *et al.*, 2013) e UNITE (Nilsson *et al.*, 2019), a fim de enriquecer as matrizes. As sequências serão alinhadas utilizando o MAFFT v.7 31 (Kato & Standley, 2013). A partir das matrizes alinhadas serão feitas reconstruções filogenéticas utilizando os métodos de Inferência Bayesiana (IB) e Máxima Verossimilhança (ML), com parâmetros a serem definidos, usando *softwares* específicos. As sequências geradas neste trabalho serão depositadas no banco de dados GenBank e UNITE.

5. CUSTOS DO PROJETO

Todos os equipamentos e infraestrutura necessários para as etapas de análises morfológicas (ex.: microscópio estereoscópico, microscópio óptico com régua micrométrica acoplada), moleculares até antes do sequenciamento (ex.: centrífuga, autoclave, termociclador, conjunto de micropipetas) são disponibilizados pelo MICOLAB, Laboratório de Microscopia Anatômica, Laboratório de Biologia Molecular (LAMEB) e Fungário e Herbário FLOR. Desta forma, a despesa prevista para o custo do projeto (Tabela 3) diz respeito ao deslocamento para as coletas e visitas aos fungários, insumos para as análises morfológicas (lâminas, lamínulas, etc.), insumos para extração, amplificação purificação do DNA (reagentes, ponteiras, microtubos), serviço terceirizado de sequenciamento de DNA e demais itens presentes no orçamento.

Tabela 3. Orçamento previsto para o desenvolvimento do projeto “A floresta brilhante: estudos taxonômicos e moleculares das *Mycena* (Agaricales, Mycenaceae) bioluminescentes da Mata Atlântica do sul do Brasil”.

Categoria da despesa	Descrição dos itens	Quantidade	Unidade	Valor unitário (R\$)	Valor total (R\$)
Uso e consumo	Saco plástico fecho hermetico (zip lock) 7x5cm	1	Pacote com 1000 und.	R\$35,67	R\$35,67
	Saco plástico fecho hermetico (zip lock) 10x7cm	3	Pacote com 100 und.	R\$8,16	R\$24,48
	Silica gel (granulometria 4-8 mm)	2	Pacote com 1 kg	R\$50,00	R\$100,00
	Lâmina para Microscopia 26x76mm Ponta Lisa Lapidada	5	Caixa com 50 und.	R\$8,07	R\$40,35
	Laminula 22x22mm	10	Caixa com 100 und.	R\$4,20	R\$42,00
	Lâmina de Barbear para navalha Chrome Platinum (BIC)	5	Kit com 10 embalagens com 5 und.	R\$22,50	R\$112,50
	Pinça Anatômica Ponta Fina	2	Und.	R\$23,80	R\$47,60
	Luva de látex descartável	5	Caixa com 100 und.	R\$46,90	R\$234,50
	Microtubo de Centrifugação 2mL	1	Pacote com 1000 und.	R\$72,28	R\$72,28
	Microtubo Centrifugação 1,5mL	2	Pacote com 500 und.	R\$96,07	R\$192,14
	Microtubo PCR 200µL	1	Pacote com 1000 und.	R\$425,00	R\$425,00
	Microtubo PCR 500 µl	1	Pacote com 1000 und.	R\$386,00	R\$386,00
	Ponteira 10 µL Com Filtro Estéril	1	Pacote com 1000 und.	R\$229,00	R\$229,00
	Ponteira 200µL Sem Filtro Amarela	2	Pacote com 1000 und.	R\$73,10	R\$146,20
	Ponteira 1000µL Sem Filtro Azul	1	Pacote com 1000 und.	R\$201,26	R\$201,26
	Primers (ITS1, ITS4, LROR, LR7)	4	Microtubo (1 und. para cada primer)	R\$25,00	R\$100,00
	Reagentes gerais para extração e purificação (ex.: CTAB, TBE, álcool isoamílico, etc.)	1	n/a	R\$300,00	R\$300,00
	Ladder	1	Microtubo 50 ug	R\$515,00	R\$515,00
	Corante para gel de agarose	1	Microtubo com 1 mL	R\$580,00	R\$580,00
	Loading dye	1	Kit com 5 microtubos com 1 mL	R\$101,20	R\$101,20
Master Mix para PCR	3	Kit de 100 reações	R\$585,00	R\$1755,00	
Serviço de terceiros Pessoa Jurídica	Sequenciamento de amostras de DNA (Método Sanger)	400	Reação	R\$26,00	R\$10400,00
Viagens	Gasolina	881	Litro	R\$5,68	R\$5004,08
	Hospedagem	10	Diária	R\$300,00	R\$3000,00
TOTAL					R\$30644,26

Os insumos necessários da categoria “Uso e consumo” já foram adquiridos com verbas de projetos aprovados ao longo do ano de 2021/2022. Desta forma, os gastos previstos para o projeto atual seriam com o sequenciamento de DNA, que serão pagos com verbas de projetos aprovados no MICOLAB e apoio de colaboradores, e com as viagens de coletas, que será pago com recursos próprios.

6. CRONOGRAMA DE EXECUÇÃO

O presente projeto de doutorado teve início no ano de 2021, por tanto ele já se encontra em andamento. Desta forma no cronograma de execução do projeto (Quadro 1) constam as informações do andamento da segunda parte do projeto, que teve início no ano de 2022 e as futuras atividades que serão desenvolvidas.

Quadro 1. Cronograma trimestral referente ao projeto de pesquisa “A floresta brilhante: estudos taxonômicos e moleculares das *Mycena* (Agaricales, Mycenaceae) bioluminescentes da Mata Atlântica do sul do Brasil”.

Atividade/ mês	2021			2022				2023			2024				2025		
	1 ^a	2	3 ^b	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16 ^c
Coletas de basidiomas																	
Análises morfológicas																	
Extração, Amplificação e Sequenciamento																	
Processamento dos dados moleculares																	
Análises filogenéticas																	
Incorporação dos espécimes do Fungário FLOR																	
Redação de artigos científicos																	
Participação de eventos científicos																	
Participação de atividades de extensão universitária																	
Redação da tese																	
Pré-banca																	
Entrega e defesa da tese																	

Legenda: ■ Atividades concluídas; ■ Atividades em andamento; ■ Atividades que ainda precisam ser feitas; ^a Início em maio/2021; ^b Equivalente a novembro e dezembro/2021 (2 meses); ^c Equivalente a abril e maio/2025 (2 meses).

7. BIBLIOGRAFIA

Benson, D. A.; Cavanaugh, M.; Clark, K.; Karsch-Mizrachi, I.; Lipman, D. J.; Ostell, J. & Sayers, E. W. 2013. GenBank. **Nucleic Acids Res.** 41, 36–42. doi: 10.1093/nar/gks1195.

Bermudes, D.; Petersen, R. H. & Neelson, K. H. 1992. Low-level bioluminescence detected in *Mycena haematopus* basidiocarps. **Mycologia** 84, 799–802.

Borges, M. E. de A. **Diversidade de fungos bioluminescentes do gênero *Mycena* (Basidiomycota, Mycenaceae) da Mata Atlântica catarinense, Santa Catarina, Brasil.** (Universidade Federal de Santa Catarina, 2020). Disponível em: <<https://repositorio.ufsc.br/handle/123456789/216519>>.

Chang, C. C.; Chen, C. Y.; Lin, W. W. & Kao, H. W. 2020. *Mycena jingyinga*, *Mycena luguensis*, and *Mycena venus*: Three new species of bioluminescent fungi from Taiwan. **Taiwania** 65, 396–406.

Cortés-Pérez, A.; Desjardin, D. E.; Perry, B. A.; Ramírez-Cruz, V.; Ramírez-Guillén, F.; Villalobos-Arámbula, A. R. & Rockefeller, A. 2019. New species and records of bioluminescent *Mycena* from Mexico. **Mycologia** 111, 319–338. <https://doi.org/10.1080/00275514.2018.1554172>.

Dauner, L. A. P.; Karunarathna, S. C.; Tibpromma, S.; Xu, J. & Mortimer, P. E. 2021. Bioluminescent fungus *Roridomyces viridiluminus* sp. nov. and the first Chinese record of the genus *Roridomyces*, from Southwestern China. **Phytotaxa** 487, 233–250. <https://doi.org/10.11646/phytotaxa.487.3.4>.

de Meijer, A. A. R. 2010. Preliminary list of the macromycetes from the Brazilian state of Paraná: corrections and updating. **Bol. do Mus. Botânico Munic.** 72, 1–9. Disponível em: <<http://multimidia.curitiba.pr.gov.br/2012/00118094.pdf>>.

Desjardin, D. E.; Capelari, M. & Stevani, C. V. 2007. Bioluminescent *Mycena* species from Sao Paulo, Brazil. **Mycologia** 99, 317–331. doi: 10.3852/mycologia.99.2.317.

Desjardin, D. E.; Perry, B. A.; Lodge, D. J.; Stevani, C. V. & Nagasawa, E. 2010. Luminescent *Mycena*: new and noteworthy species. **Mycologia** 102, 459–477. doi: 10.3852/09-197.

Desjardin, D. E.; Perry, B. A. & Stevani, C. V. 2016. New luminescent mycenoid fungi (Basidiomycota, Agaricales) from Sao Paulo State, Brazil. **Mycologia** 6, 1165–1174. <https://doi.org/10.3852/16-077>.

de Ventura, F. F.; Silva, R. T. P. & Stevani, C. V. 2015. History of the bioluminescent fungi flor-de-coco (*Neonothopanus gardneri*) and effects of culture conditions on light emission. **Rev. Virtual Quim.** 7, 41–55. doi: 10.5935/1984-6835.20150003.

Flora e Funga do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/>>. Acesso em: 29 abr. 2023.

Gardner, G. **Viagens no Brasil** - principalmente nas províncias do Norte e nos Distritos do Ouro e do Diamante durante os anos de 1836-1841. *Brasiliana* 223. (Editora Nacional, 1942). Tradução: Pinheiro, A. Disponível em: <<http://brasilianadigital.com.br/brasiliana/colecao/obras/125/viagens-pelo-brasil-principalmente-nas-provincias-do-norte-e-nos-distritos-do-ouro-e-do-diamante-durante-os-anos-de-1836-1841>>.

Hawksworth, D. L. & Lücking, R. 2017. Fungal Diversity Revisited: 2.2 to 3.8 Million Species. **Microbiol. Spectr.** 5, 1–17. doi: 10.1128/microbiolspec.FUNK-0052-2016.

Karunarathna, S. C.; Mortimer, P. E.; Tibpromma, S.; Dutta, A. K.; Paloi, S.; Hu, Y.; Baurah, G.; Axford, S.; Marciniak, C.; Luangharn, T.; Madawala, S.; Lin, C.; Chen, J-Z.; Acharya, K.; Kobmoo, N.; Samarakoon, M. C.; Karunarathna, A.; Gao, S.; Xu, J. & Lumyong, S. 2020. *Roridomyces phyllostachydis* (Agaricales, Mycenaceae), a new bioluminescent fungus from Northeast India. **Phytotaxa** 459, 155–167. <https://doi.org/10.11646/phytotaxa.459.2.6>.

Katoh, K. & Standley, D. M. 2013. MAFFT multiple sequence alignment software version 7: Improvements in performance and usability. **Mol. Biol. Evol.** 30, 772–780. doi: 10.1093/molbev/mst010

Kornerup, A. & Wanscher, J. H. **Methuen handbook of Colour.** (Eyre Methuen, 1978).

Largent, D. L. **How to identify Mushrooms to Genus I: Macroscopic Features.** (Mad River Press, 1986).

Largent, D. L.; Johson, D. & Watling, R. **How to identify Mushrooms to Genus III: Microscopic Features.** (Mad River Press, 1977).

Maas Geesteranus, R. A. & de Meijer, A. A. R. **Mycenae Paranaenses.** (North-Holland, 1997).

MMA. **Mapa de Vegetação Nativa na Área de Aplicação da Lei no. 11.428/2006 – Lei da Mata Atlântica (ano base 2009).** Minist. do Meio Ambient. 85 (2015).

Nilsson, R. H.; Larsson, K-H; Taylor, A. F. S.; Bengtsson-Palme, J.; Jeppesen, T. S.; Schigel, D.; Kennedy, P.; Picard, K.; Glöckner, F. O.; Tedersoo, L.; Saar, I.; Kõljalg, U. & Abarenkov, K. 2019. The UNITE database for molecular identification of fungi: Handling dark taxa and parallel taxonomic classifications. **Nucleic Acids Res.** 47, D259–D264. doi: 10.1093/nar/gky1022.

Oliveira, J. J. S.; Vargas-Isla, R.; Cabral, T. S.; Cardoso, J. S.; Andriolli, F. S.; Rodrigues, D. P.; Ikeda, T.; Clement, C. R. & Ishikawa, N. K. 2021. The Amazonian luminescent *Mycena cristinae* sp. nov. from Brazil. **Mycoscience** 62, 395–405. <https://doi.org/10.47371/mycosci.2021.05.004>.

Paton, A.; Antonelli, A.; Carine, M.; Forzza, R. C.; Davies, N.; Demissew, S.; Dröge, G.; Fulcher, T.; Grall, A.; Holstein, N.; Jones, M.; Liu, U.; Miller, J.; Moat, J.; Nicolson, N.; Ryan, M.; Sharrock, S.; Smith, D.; Thiers, B.; Victor, J.; Wilkinson, T; & Dickie, J. 2020. Plant and fungal collections: Current status, future perspectives. **Plants, People, Planet** 2, 499–514. doi: 10.1002/ppp3.10141.

Perry, B. A. **A taxonomic investigation of *Mycena* in California.** (San Francisco State University, 2002).

Ponzoni, F. J., Metzger, J. P., Hirota, M., Rosa, M. R. & Azevedo, T. 2019. **Qual é a área de cobertura da Mata Atlântica?** Disponível em: <<https://www.sosma.org.br/artigos/qual-e-area-de-cobertura-da-mata-atlantica/>>.

Ribeiro, M. C.; Metzger, J. P.; Martensen, A. C.; Ponzoni, F. J. & Hirota, M. M. 2009. The Brazilian Atlantic Forest: How much is left, and how is the remaining forest distributed? Implications for conservation. **Biol. Conserv.** 142, 1141–1153. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2009.02.021>

Ribeiro, M. C.; Martensen, A. C.; Metzger, J. P.; Tabarelli, M.; Scarano, F. & Fortin, M-J. 2011. The Brazilian Atlantic Forest: A Shrinking Biodiversity Hotspot. em **Biodiversity Hotspots** 405–434 (Springer Berlin Heidelberg). doi:10.1007/978-3-642-20992-5_21.