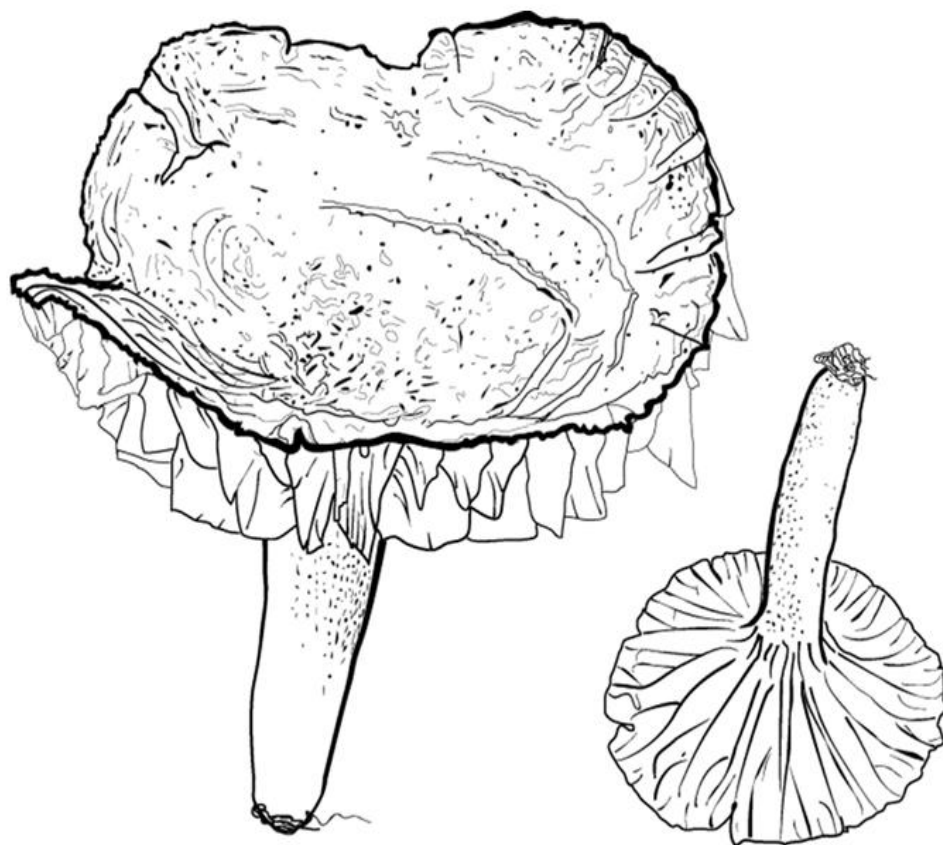


MELISSA JAEGER

DIVERSIDADE DE *RUSSULACEAE*
PARA O BRASIL



FLORIANÓPOLIS, SC
2013

CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE BOTÂNICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA VEGETAL

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

DIVERSIDADE DE RUSSULACEAE PARA O BRASIL

Melissa Cristina Weis Jaeger
Orientadora: Prof^a. Dr^a. Maria Alice Neves

Florianópolis
2013

Melissa Cristina Weis Jaeger

DIVERSIDADE DE RUSSULACEAE PARA O BRASIL

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Biologia de Fungos, Algas e Plantas da Universidade Federal de Santa Catarina, como parte dos requisitos exigidos para a obtenção do Grau de mestre em Biologia de Fungos, Algas e Plantas.

Orientador: Prof. Dr. Maria Alice Neves

Coorientador: Prof. Dr. Clarice Loguercio-Leite

Florianópolis
2013

Dedico este trabalho à minha família e aos meus colegas e professores do Micolab.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a minha orientadora Maria Alice Neves por ter me resgatado de volta para o mundo dos fungos. Agradeço por todos os ensinamentos, pelas oportunidades, pelas conversas, pela amizade, paciência, apoio e acima de tudo confiança.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo auxílio financeiro fornecido sob a forma de bolsa.

À Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC) como entidade e ao Departamento de Botânica e Programa de Pós-graduação em Biologia de Fungos, Algas e Plantas pela infraestrutura e suporte oferecidos.

A todos os funcionários e pesquisadores do Departamento de Botânica e da pós-graduação pela gentileza e auxílio durante a realização deste trabalho. Aos pesquisadores e professores, que das mais diversas formas contribuíram para o meu crescimento pessoal, acadêmico e profissional.

Ao Laboratório Central de Microscopia Eletrônica (LCME) da UFSC pelas análises de Microscopia Eletrônica de Varredura.

Aos curadores dos herbários NY, FH, K, PACA, INPA, SP e RB pelo empréstimo e disponibilização dos materiais para estudo.

Ao micólogo Dr. Jean-Marc Moncalvo que ajudou a elucidar algumas dúvidas e deu suas contribuições para este trabalho.

Ao Jodrell Laboratory no Kew Royal Botanic Gardens pela infraestrutura oferecida para realização dos estudos moleculares e em especial ao pesquisador Dr. Bryn Dentinger pelos ensinamentos e ajuda nos trabalhos. Ao “Benton-Moxon trust” pela bolsa concedida para realização dos estudos moleculares em Londres, UK.

Ao New York Botanical Garden pela bolsa de estágio e por toda infraestrutura oferecida para realização do meu trabalho. Agradeço a toda equipe de funcionários do Garden e amigos de lá que estiveram sempre ao meu lado e compartilharam de momentos especiais comigo.

Ao Friends of the Farlow pela bolsa concedida para minha visita de estudos ao Farlow Herbarium na Harvard University e à equipe de profissionais do herbário que me auxiliaram.

A minha família que sempre me incentivou a ir atrás dos sonhos. Aos meus pais, Clemente e Dulce Jaeger, e meus irmãos Marlon e Fabíola, pelo carinho, apoio, amor e confiança, por me amarem e me aguentarem nos momentos difíceis.

Agradeço aos colegas e amigos do Micolab e todos àqueles que foram para as coletas comigo, obrigada pela parceria. Em especial à Salomé pela consultoria com as pileipelis, ao Altielys pela ajuda com as figuras e pelo companheirismo. À Valéria e Fernanda que me ajudaram no laboratório de Biologia Molecular. A todos que coletaram e gentilmente me forneceram materiais, Caio,

Larissa, Dirce, Salomé, Altielys e Maria Alice, obrigada. E a todos outros que sempre estiveram no laboratório, nas coletas, nos Rick Forays, compartilhando seus conhecimentos nas reuniões ou confraternizando.

E todos os demais que de alguma forma me auxiliaram no desenvolvimento deste trabalho, o meu muito obrigada!

Melissa Jaeger

RESUMO

As espécies de Russulaceae são facilmente reconhecidas por apresentarem basidioma quebradiço e basidiósporos amiloides ornamentados. Embora seja considerada uma família cosmopolita e abundante nas regiões temperadas, é pouco conhecida no Brasil. Com o objetivo de contribuir para o conhecimento de Russulaceae foram estudados materiais coletados em diferentes regiões do Brasil. Dezesete espécies foram identificadas e estão distribuídas em dois gêneros, sendo que 14 são espécies novas: *Lactifluus byssinus*, *Lf. caseo-odoratus*, *Lf. concentricus*, *Lf. copiosus*, *Lf. dimorphosporus*, *Lf. hygrophanus*, *Lf. mineirensis*, *Russula ampullicystidiata*, *R. dentingerii*, *R. fuscopurpurea*, *R. gelineostrata*, *R. lilacinopunctata*, *R. rhizomorpha* e *R. thinia*; *Russula puiggarii* é citada pela primeira vez para os estados de Santa Catarina, Rio de Janeiro e Paraíba; *Lactifluus panuoides* é nova combinação e nova citação para o Brasil. Para todas as espécies são apresentadas descrições, comentários, ilustrações, fotos em MEV e fotos coloridas dos basidiomas. Com o intuito de entender melhor a posição filogenética dos táxons brasileiros foram obtidas sequências do espaçador ITS para 16 espécies. Embora este levantamento não possa ser considerado como completo, o presente trabalho contribuiu significativamente para ampliar o conhecimento de Russulaceae no país.

Palavras-chave: *Lactifluus*, neotrópicos, *Russula*, taxonomia.

ABSTRACT

Species of Russulaceae are easily recognized by the brittle basidiomata and ornamented amyloid basidiospores. Even though it is considered a cosmopolitan family and abundant in temperate regions, members of the Russulaceae are poorly known in Brazil. Thus, in order to contribute to the knowledge of the diversity of Russulaceae, specimens from different regions of Brazil were studied. A total of 17 species belonging to two genus have been identified, from which 14 are new species: *Lactifluus byssinus*, *Lf. caseo-odoratus*, *Lf. concentricus*, *Lf. copiosus*, *Lf. dimorphosporus*, *Lf. hygrophanus*, *Lf. mineirensis*, *Russula ampullicystidiata*, *R. dentingerii*, *R. fuscopurpurea*, *R. gelineostrata*, *R. lilacinopunctata*, *R. rhizomorpha* and *R. thinia*; *Russula puiggarii* is cited for the first time for Santa Catarina, Rio de Janeiro and Paraíba states; *Lactifluus panuoides* is a new combination and a new citation for Brazil. Descriptions, notes, drawings, SEM images and macroscopic color pictures of the basidiomata are provided. Furthermore, 16 sequences of ITS gene were obtained with the aim to contribute to future phylogenetic studies. The goal of the present study was to increase the knowledge about the diversity of Russulaceae, however this survey is yet to be continued.

Keywords: *Lactifluus*, neotropics, *Russula*, taxonomy.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
1.1. OBJETIVOS.....	7
1.2. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	8
2. CAPÍTULO I	11
2.1. <i>CHECK LIST</i> DE RUSSULACEAE NO BRASIL	11
2.2. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	17
3. CAPÍTULO II.....	19
3.1. ARTIGO: <i>New species of Russula from Brazil</i>	19
4.1. ARTIGO: <i>The genus Lactifluus in Brazil</i>	40
5. CAPÍTULO IV	63
5.1. FILOGENIA MOLECULAR DE RUSSULACEAE: UM ESTUDO PRELIMINAR	63
5.2. MÉTODOS MOLECULARES	64
5.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	65
5.4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	68
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS	69

1. INTRODUÇÃO

Entrando no mundo dos fungos

A exploração da natureza tem perturbado dramaticamente os padrões de biodiversidade na Terra e tem levado a extinções de espécies, muitas das quais permanecem desconhecidas. Nossas tentativas para entender, conservar e restaurar a biodiversidade, no entanto, são dificultadas devido aos limites ecológicos e conhecimento taxonômico da biota global existente (Loreau et al. 2001). Os fungos representam um dos maiores grupos de organismos vivos do planeta (Mueller et al. 2007; Blackwell 2011) e as informações disponíveis para a maioria das espécies são limitadas e incompletas, o que faz com que as estimativas atuais do número de espécies existentes de fungos sejam significativamente diferentes dependendo do autor. Tem sido sugerido por alguns autores que a diversidade de espécies de fungos pode ser estimada usando a diversidade de espécies de plantas vasculares da mesma região. Uma estimativa conservadora é de 700 mil espécies de fungos, porém acredita-se que a riqueza é na verdade muito maior (Mueller et al. 2006; Schmit et al. 2006). Uma das estimativas mais aceitas é de que existam 1 milhão e meio de espécies de fungos em todo o globo, e que até o momento aproximadamente 100 mil espécies foram descritas (apenas 7%) (Hawksworth et al. 1995). Uma estimativa mais recente, no entanto, é de que esse número possa chegar a 5,1 milhões ou até mesmo a 13 milhões (Blackwell 2011). O conhecimento da diversidade de fungos em muitas regiões é rudimentar e os dados são escassos, particularmente nos trópicos. Esforços para melhor documentar a sua diversidade, a fim de conservá-la, precisam ser priorizados (Mueller et al. 2007, Blackwell 2011). Obter informações mais estáveis e aceitáveis da diversidade taxonômica é também necessário para permitir que os fungos sejam incluídos em planos de conservação da biodiversidade, planos de gestão e de uso de terras (Mueller et al. 2007).

Estes organismos têm um enorme impacto no planeta, modificando habitats e exercendo funções essenciais para a manutenção dos ecossistemas, atuando como saprófitos ou parasitas e em simbiose com outras espécies. Os fungos formam solos, reciclam nutrientes, decompõem matéria orgânica e auxiliam no crescimento de plantas. Eles são utilizados como fonte de alimento, podendo também ser causadores de intoxicações e agressivos parasitas, ou ainda responsáveis pela cura de muitas doenças. Eles destroem colheitas, casas e bibliotecas, mas eles também produzem alimentos e bebidas, além de compostos bioquímicos valiosos, como o álcool e antibióticos (Blackwell et al. 2006).

Determinar a magnitude e os padrões da diversidade de espécies de fungos tem sido um contínuo desafio para os micologistas. Muitos dos fungos são efêmeros e crípticos, o que faz deles organismos difíceis de registrar. Apesar destas dificuldades, sabe-se que os fungos são extremamente diversos (Schmit et al. 2006).

Dados da biodiversidade de plantas já foram muito bem estudados em quase todas as partes do mundo. Através destes estudos, sabe-se que há uma diversidade muito maior de plantas nas regiões tropicais do globo do que em regiões temperadas. Nos dados de estudo de diversidade de fungos, há uma inversão neste padrão, onde os dados obtidos até agora apontam para uma maior diversidade de fungos nas regiões temperadas do Hemisfério Norte ao comparar-se com a faixa tropical do globo. Estes dados discrepantes entre a diversidade de fungos e plantas nas diferentes regiões climáticas caracterizam um baixo esforço de coletas de grupos fúngicos nas regiões tropicais, além da ausência de especialistas em certas regiões geográficas e de certos grupos taxonômicos.

Sabe-se que a micologia no Hemisfério Norte é uma ciência antiga e amplamente difundida. Por sua vez, as regiões tropicais do Hemisfério Sul têm a micologia como uma ciência recente, ainda com poucos pesquisadores e uma ampla área a ser estudada.

Percorrendo os caminhos de Russulaceae

Em relação à classificação de fungos, muitas mudanças aconteceram recentemente, especialmente a partir do início da década de 90. Até o final do século passado, conceitos macromorfológicos, como a forma do basidioma, dominaram o sistema de classificação dos homobasidiomicetes. Nesse tempo, fungos ressupinados, agaricoides, coraloídes e gasteroídes eram relacionados quanto ao tipo do basidioma, sendo inconcebível que táxons com basidiomas morfologicamente diversos pudessem ser classificados juntos (Miller et al. 2006).

Um dos primeiros sistemas de classificação para homobasidiomicetes (e outros macrofungos) foi o sistema de Fries (1874) que agrupava táxons com base nas características morfológicas do himenóforo. Dentre as classificações seguintes que tiveram maior influência estão as de Donk (1964, 1971), que dividiu as 6 famílias de Aphylophorales do sistema de Fries em 23 famílias, Singer (1986), que dividiu Agaricales em 17 famílias, e Dring (1973), que classificou Gasteromycetes em 9 ordens com 23 famílias (Hibbett et al. 2001).

Segundo o sistema de classificação de Singer (1986), Russulaceae era considerada uma das 17 famílias dentro da ordem Agaricales, subordem Russulineae. Em 1977, Oberwinkler propôs Russulales como um grupo de fungos relacionados que incluía todas as possibilidades de tipos de basidioma conhecidos dentro de homobasidiomicetes. Porém, a proposta não ganhou aceitação na época. Hibbett e Thorn (2001) diferenciaram o clado russuloide, no entanto sem propor oficialmente o táxon. Ainda em 2001, Kirk et al. propuseram a ordem Russulales conforme agrupamento já sugerido por Oberwinkler em 1977. Esse conceito ganhou aceitação e sustenta a classificação mais atual (Hibbett et al. 2001; Kirk et al. 2001; Miller et al. 2006; Kirk et al. 2008).

Russulales Kreisel ex P.M. Kirk, P.F. Cannon & J.C. David é um dos 12 grupos taxonômicos recentemente elucidados através de dados moleculares. Em termos morfológicos é a ordem mais diversa, contendo uma grande variedade de formas de basidioma, incluindo ressupinado, discoide, efuso-reflexo, clavarioide, pileado ou gasteroide, e configurações de himenóforo desde liso, poroide, hidnoide, lamelado até labirintoide. Funcionalmente esses fungos são na sua grande maioria saprotrófica, porém outros são ectomicorrízicos, parasitas de raízes e simbiontes de insetos (Miller et al. 2006).

Russulales compreende 12 famílias e aproximadamente 80 gêneros e 4.000 espécies. Uma das sinapomorfias de Russulales é a presença do sistema gloeopleuro, que inclui dois tipos de hifas: oleíferas e laticíferas. A reação amiloide das paredes dos esporos na presença de reagente de Melzer, usada como caráter taxonômico em fungos, tem sido utilizada para identificar membros de Russulales (Miller et al. 2006).

Dentro de Russulales, mais de um terço das espécies conhecidas são de gêneros pertencentes à Russulaceae Lotsy. Essa é uma família de basidiomicetes ectomicorrízicos, onde se destacam dois gêneros principais: *Russula* Pers. e *Lactarius* Pers. A principal característica de Russulaceae está na morfologia dos basidiósporos que são ornamentados e apresentam uma reação fortemente amiloide. Russulaceae difere também de outras famílias por ter o basidioma heterômero, composto por hifas cilíndricas e esferocistos, que tornam o basidioma quebradiço (Miller et al. 2006).

As espécies de *Russula* e *Lactarius*, além de possuírem importância econômica na culinária, são ecologicamente importantes como formadores de associações ectomicorrízicas. Os fungos micorrízicos absorvem compostos e elementos do solo e os transferem às plantas com as quais estão associados, formando uma extensa rede micelial que interliga diversos componentes do bioma, permitindo a transferência de nutrientes entre planta hospedeira e fungo e até mesmo de uma planta à outra. A habilidade de estabelecer simbiose com fungos micorrízicos capacita as plantas à melhor sobrevivência e crescimento, contribuindo, dessa forma, para o sucesso das comunidades vegetais (Read 1999).

Russula e *Lactarius* têm uma rica história taxonômica na literatura micológica europeia. Espécies destes gêneros são geralmente conspícuas e importantes componentes das florestas e ecossistemas do Hemisfério Norte. Elas contribuem significativamente para a biomassa fúngica, são importantes como elementos da dieta de insetos e animais, assim como para o homem (Miller et al. 2002).

Com poucas exceções na América do Norte, América do Sul e África, a maioria dos trabalhos de classificação envolvendo Russulaceae foi realizada com táxons da Europa. Assim, a filogenia da família inclui predominantemente táxons do Hemisfério Norte. Buyck et al. (2008) apresentaram estudos com um pequeno número de descobertas recentes e extremamente raras com táxons

tropicais e subtropicais que nunca haviam sido incluídos em estudos moleculares (Buyck et al. 2008).

Segundo Buyck et al. (2008) a distinção formal entre *Russula* e *Lactarius* depende inteiramente de caracteres associados ao sistema de hifas laticíferas, que não é ramificado e não se estende para o himênio em *Russula*, diferentemente do que ocorre com os pseudocistídios do sistema laticífero ramificado de *Lactarius*. Tipicamente, *Lactarius* exuda látex quando manuseado ou cortado, enquanto espécies de *Russula* não. Como nas regiões temperadas do Hemisfério Norte os basidiomas de *Lactarius* frescos prontamente exudam látex, a distinção entre os gêneros é normalmente mais fácil, mesmo no campo. *Lactarius* também tende a ter píleo e estipe de coloração mais pálida e uniforme, bem como lamélulas regularmente inseridas entre as lamelas. *Russula*, por outro lado, tem píleos coloridos, contrastantes com as lamelas e estipe mais pálido, e apenas algumas espécies têm lamélulas regularmente inseridas entre as lamelas (Buyck et al. 2008).

Com estudos de Russulaceae na África tropical, Buyck et al. (2008) mostraram que estas diferenças entre os dois gêneros podem não ocorrer nos trópicos da mesma forma que ocorrem nas regiões temperadas do Hemisfério Norte. Os autores dizem que a inexistência de exudação de látex não é um fenômeno incomum em espécies de *Lactarius* tropicais, mesmo quando o sistema laticífero é abundante no contexto. Assim, muitos dos espécimes não podem ser tão facilmente identificados em um dos dois gêneros quando em campo.

Quando a nomenclatura encontra as moléculas

Com o aparecimento de novas ferramentas moleculares e sequências de DNA de diversos táxons, espécies estudadas pela morfologia tradicional têm sido reveladas. Atualmente o método dominante para o diagnóstico de espécies de fungos baseado em dados de sequências de DNA se baseia em árvores filogenéticas e compara grupos monofiléticos para as espécies. Análises filogenéticas baseadas em sequências de DNA ribossomal fornecem uma alternativa efetiva para a morfologia na reconstrução de relações evolutivas e na avaliação de caracteres úteis em taxonomia (Miller & Buyck 2002).

Lactarius sempre foi considerado um gênero irmão de *Russula*, mas um estudo molecular de Russulaceae feito por Buyck et al. (2008) revelou que ambos os gêneros são na verdade parafiléticos e que a família deveria ser dividida em 4 gêneros estreitamente relacionados. *Lactarius furcatus* Coker e espécies de *Russula* da subseção *Ochricomptactae* Bills & O.K. Mill. foram então acomodadas no gênero *Multifurca* Buyck & Hofstetter., que se distingue de *Russula* e de *Lactarius* por apresentar esporada escura e lamelas bifurcadas, com distribuição conhecida para EUA, Costa Rica, Tailândia e Índia. Essa separação resultou no monofiletismo das espécies restantes de *Russula*. *Lactarius* continuou sendo parafilético e composto por dois grandes clados (Buyck et al.

2008, Stubbe et al. 2012, Van de Putte 2012). Buyck et al. (2010) propuseram conservar o nome *Lactarius* para o primeiro clado e usar o nome *Lactifluus* para o último. A proposta (Buyck et al. 2010) foi apoiada pelo “Nomenclatural Committee for Fungi” (Norvell 2011) e foi aprovada pelo Comitê Geral e aceita pelo Congresso Internacional de Botânica em 2011. O gênero *Lactarius* sensu novo inclui o antigo *Lactarius* subgêneros *Piperites*, *Russularia* e *Plinthogalus*. O novo gênero *Lactifluus* (Pers.) Roussel compreende o antigo *Lactarius* subgêneros *Gerardii*, *Lactarius*, *Lactifluus*, *Lactariopsis*, *Russolopsis* e seção *Edules* (Buyck et al. 2010, Verbeken et al. 2011, Verbeken et al. 2012). A espécie tipo de *Lactarius* - *L. piperatus* (L.:Fr.) Pers. – entrou no segundo e menor clado, *Lactifluus*. Buyck et al. (2010) decidiram então conservar como tipo de *Lactarius* a espécie *L. torminosus* (Schaeff.: Fr.) Pers.

De acordo com Van de Putte (2012), o gênero *Lactifluus* está distribuído principalmente nos trópicos e é geneticamente mais diverso que o gênero *Lactarius* sensu novo. Nem *Lactifluus* nem *Lactarius* podem ser definidos por meio de estado de caracteres sinapomórficos. Há, no entanto, algumas tendências morfológicas que poderiam ajudar na identificação dos gêneros. *Lactifluus* contém muitas espécies com véu, píleo velutino a tomentoso, assim como espécies com anel. Píleo zonado e viscoso a glutinoso, por outro lado, estão ausentes nos membros de *Lactifluus*, mas são comumente encontrados em *Lactarius*. Até agora, espécies pleurotoides foram registradas apenas em *Lactifluus*, enquanto que as espécies angiocárpicas só foram encontradas em *Lactarius*. Microscopicamente, esferocistos himeniais, cystídios himeniais de parede engrossada (lamprocistídios), assim como elementos de parede engrossada na pileipelis são mais típicos para *Lactifluus*. Cistídios himeniais de parede fina com conteúdo granular e tipo agulha, então chamados de macrocistídios, são comuns em *Lactarius* e típicos de *Russula* (Van de Putte 2012).

Uma das mais marcantes diferenças entre *Lactarius* e *Lactifluus* é sua distribuição geográfica (Van de Putte 2012). Embora *Lactarius* apresente muitas espécies com distribuição tropical ou subtropical, é notável que compreenda espécies conhecidas para as regiões temperada e boreal. *Lactifluus*, por outro lado, tem poucas espécies que crescem em regiões temperadas, e a maioria dos táxons está nos trópicos e subtropicais. Segundo estudo de Van de Putte (2012), além das nove espécies que já haviam sido combinadas em *Lactifluus* por Kuntze (1891), mais 109 espécies são agora aceitas como novas combinações (Stubbe et al. 2012b, Verbeken et al. 2011, Verbeken et al. 2012), mas como as regiões tropicais e subtropicais vêm sendo cada vez mais exploradas, o número total de espécies de *Lactifluus* deve aumentar significativamente nos próximos anos. De acordo com Van de Putte (2012), cerca de 20 espécies sul-americanas pertencem a *Lactifluus*, baseado na descrição morfológica original, porém uma vez que a autora não fez o estudo morfológico e molecular destas, elas não foram recombinações. Somente uma espécie sul-americana, *Lactarius annulifer*, foi recombinações por Verbeken et al. (2011). Serão usadas nesse trabalho as abreviações “L.” para *Lactarius* e “Lf.” para *Lactifluus*.

Onde queremos chegar?

Dados mundiais apresentam até o momento cerca de 650 espécies de *Lactarius*, 750 de *Russula*, 118 de *Lactifluus* e 5 de *Multifurca* (Kirk et al. 2008; Buyck et al. 2008; Verbeken et al. 2011; Van de Putte 2012). Para o Brasil são encontradas poucas citações de espécies nativas de Russulaceae. Rick (1961) registrou quatro espécies de *Russula* e quatro de *Lactarius* para o Rio Grande do Sul. Em São Paulo foram registradas duas espécies de *Russula* (Grandi et al. 1984; Capelari 1989) e duas de *Lactarius* (Singer et al. 1983; Grandi et al. 1984). Meijer (2006) identificou duas espécies nativas de *Russula* e uma de *Lactarius* para o Paraná, Capelari et al. (1988) identificaram uma espécie de *Russula* para o estado de Rondônia e Wartchow et al. (2010) identificaram uma espécie de *Lactarius* para Pernambuco. A maior diversidade dentro do grupo conhecida para o Brasil está na Amazônia Central, em áreas de campinarana e floresta de igapó, onde foram registradas doze espécies e duas subespécies de *Russula* e nove de *Lactarius* (Singer 1984; Singer et al. 1983; Singer et al. 1986). Coletas feitas recentemente ampliaram a distribuição de Russulaceae também para os estados do Rio Grande do Norte, Rio de Janeiro e Santa Catarina (Neves, comunicação pessoal, 2010; Jaeger, observação pessoal, 2011).

Os fungos tropicais são pouco estudados e análises sobre a diversidade, abundância e taxonomia estão longe de acabar, especialmente em grupos taxonomicamente desafiadores como Russulaceae, que são pouco conhecidos e o reconhecimento e as delimitações de espécies demandam de um alto grau de familiaridade com o grupo e dos métodos de identificação. Poucos estudos sobre o táxon estão disponíveis fora da Europa e América do Norte. Essas razões tornam este grupo um dos mais difíceis de abordar dentre muitos outros grupos de Basidiomycota (Hennicke et al. 2008).

O baixo conhecimento da diversidade de Russulaceae para os neotrópicos e a falta de trabalhos com filogenia molecular incluindo táxons neotropicais tem dificultado estudos mais concisos sobre o grupo. Análises filogenéticas de dados moleculares fornecem uma ferramenta adicional à morfologia na reconstrução das relações evolutivas e na avaliação de caracteres úteis na taxonomia. No presente estudo, sequências do espaçador interno transcrito (internal transcribed spacer - ITS) do gene do DNA ribossomal foram avaliadas para verificar sua utilidade em determinar posições filogenéticas e relações entre espécies representando táxons descritos para o Brasil. O uso do ITS é geralmente restrito pela sua alta taxa de variação interespecífica, fazendo com que seja difícil alinhar as sequências obtidas através de uma grande variação de táxons.

Neste trabalho também estamos preocupados com estas recentes descobertas de táxons tropicais e subtropicais que nunca foram incluídos em estudos filogenéticos. Uma vez que estudos filogenéticos não foram feitos especificamente para a família Russulaceae com materiais do Brasil

e porque, na sua grande maioria os trabalhos sobre taxonomia de Russulaceae têm sido realizados na Europa, Ásia ou América do Norte, uma inclusão de táxons brasileiros é o primeiro passo fundamental para ajudar a elucidar a taxonomia mundial de Russulaceae. Este trabalho se propõe a ampliar o conhecimento da diversidade dos táxons pileados de Russulaceae para o Brasil, incluindo aspectos de filogenia, com ênfase nos gêneros *Russula* e *Lactifluus*. As coletas dos materiais estudados foram feitas de forma aleatória e oportunista em regiões da Floresta Amazônica e Floresta Atlântica.

1.1. OBJETIVOS

Este trabalho teve como objetivo aumentar o conhecimento da biodiversidade de Russulaceae para o Brasil através do levantamento bibliográfico, estudo de materiais de herbários, de novas coletas e identificação e registro de novas espécies. Também foram construídas chaves dicotômicas incluindo as espécies brasileiras e feitos estudos filogenéticos preliminares incluindo táxons de diferentes regiões mundiais.

1.2. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Blackwell, M., et al. **Research coordination networks: a phylogeny for kingdom Fungi (Deep Hypha).** *Mycologia* 98(3): 829-837, 2006.
- Blackwell, M. **The fungi: 1, 2, 3...5.1 million species?** *American Journal of Botany* 98(3): 426-438, 2011.
- Buyck, B., et al. **Walking the thin line between *Russula* and *Lactarius*: the dilemma of *Russula* subject. *Ochricompactae*.** *Fungal Diversity* 28:15-40, 2008.
- Buyck, B., et al. **Proposal 1919: To conserve *Lactarius* nom. cons. (Basidiomycota) with a conserved type.** *Mycotaxon* 111: 504-508, 2010.
- Capelari, M. **Agaricales do Parque Estadual da Ilha do Cardoso.** São Paulo, Universidade de São Paulo. Dissertação de mestrado: 356, 1989.
- Capelari, M.; Maziero, R. **Fungos macroscópicos do estado de Rondônia região dos rios Jaru e Ji-Paraná.** *Hoehnea* 15: 28-36, 1988.
- Donk, M. A. **A conspectus of the families of the Aphyllophorales.** *Persoonia* 3: 199-324, 1964.
- Donk, M. A. **Progress in the study of the classification of the higher basidiomycetes.** In: Petersen, R.H. (ed) *Evolution in the higher basidiomycetes.* University of Tennessee Press, Knoxville: 3-25, 1971.
- Dring, D. M. **Gasteromycetes.** In: Ainsworth, G.C., Sparrow, F.K., Sussman, A.S. (eds) *The Fungi, an advanced treatise.* Academic Press, New York 4b: 451-478, 1973.
- Fries, E. M. **Hymenomycetes Europaei.** Upsaliae. E Berling, Uppsala, 1874.
- Grandi, R. A. P.; Guzmán, G.; Bononi, V.L. **Adições às Agaricales (Basidiomycetes) do Parque Estadual das Fontes do Ipiranga, São Paulo, SP, Brasil.** *Rickia* 11: 27-33, 1984.
- Hawksworth, D. L., et al. **Ainsworth and Bisby's dictionary of fungi.** Cambridge, CAB International University Press, 1995.
- Hennicke, F.; Piepenbring M. **Critical review of recent records of *Russulaceae* from Panama.** *Mycotaxon* 106: 455-467, 2008.
- Hibbett, D. S.; Thorn R. G. **Basidiomycota: Homobasidiomycetes.** *The Mycota VII Part B.* M. M. Lemke. Berlin, Springer-Verlag. VII, 2001.
- Kirk, P. M., et al. **Ainsworth and Bisby's dictionary of the fungi.** Cambridge, CAB International University Press, 2001.
- Kirk, P. M., et al. **Ainsworth and Bisby's dictionary of the fungi.** Cambridge, CAB International University Press, 2008.
- Kuntze, O. **Revisio Generum Plantarum.** Part 2. Arthur Felix, Leipzig, Germany, 1891.

- Loreau M., et al. **Biodiversity and Ecosystem Functioning: Current Knowledge and Future Challenges**. Science; Vol. 294, no. 5543, 804-808, 2001.
- Meijer, A. A. R. **The preliminary list of the macromycetes from the Brazilian state of Paraná**. Boletim do Museu Botânico Municipal, Curitiba 68: 1-55, 2006.
- Miller, S. L., et al. **Perspectives in the new Russulales**. Mycologia 98(6): 960-970, 2006.
- Miller, S. L.; Buyck B. **Molecular phylogeny of the genus *Russula* in Europe with a comparison of modern infrageneric classifications**. Mycological Research 106(3): 259-276, 2002.
- Montoya, L., et al. **New records of *Lactarius* from Mexico and discussion of the known species**. Mycotaxon 38: 349-395, 1990.
- Mueller, G. M., et al. **Global diversity and distribution of macrofungi**. Biodiversity and Conservation 16(1): 37-48, 2006.
- Mueller, G.; Schmit J. P. **Fungal biodiversity: what do we know? What can we predict?** Biodiversity and Conservation 16(1): 1-5, 2007.
- Norvell L. L. **Report of the Nomenclature Committee for Fungi: 16**. Taxon 60: 223-226, 2011.
- Oberwinkler, F. **Das neue System der Basidiomyceten**. In: Frey, W., Hurka, H., Oberwinkler, F., eds. . Beiträge zur Biologie der neideren Pflanzen. Stuttgart, New York: Gustav Fischer Verlag: 59-104, 1977.
- Read, D. J. **Mycorrhiza – the state of the art mycorrhiza: structure, function, molecular biology and biotechnology**. A. Varma and B. Hock. Berlin, Springer: 3-34, 1999.
- Rick, J. **Basidiomycetes Eubasidii in Rio Grande do Sul, Brasília**. Iheringia 8: 363-365, 1961
- Schmit, J. P.; Mueller G. M. **An estimate of the lower limit of global fungal diversity**. Biodiversity and Conservation 16(1): 99-111, 2006.
- Singer, R. **Tropical Russulaceae II. *Lactarius* section *Panuoidei***. Nova Hedwigia 40: 435-452, 1984.
- Singer, R. **The Agaricales in Modern Taxonomy**. Königstein, Germany, Koeltz Scientific Books, 1986.
- Singer, R.; Araujo, I. **Litter decomposing and ectomycorrhizal *Basidiomycetes* in an Igapó forest**. Plant Systematics and Evolution 153: 107-117, 1986.
- Singer, R.; Araujo, I.; Ivory M. H. **Ectotrophically Mycorrhizal Fungi of the Neotropical Lowlands, Especially Central Amazonia**. Nova Hedwigia. Lubrecht & Cramer Ltd, 1983.
- Stubbe D., et al. **The Australasian species of *Lactarius* subgenus *Gerardii* (Russulales)**. Fungal Diversity 52: 141-167, 2012.
- Stubbe D., et al. **New combinations in *Lactifluus*. 2. *L.* subg. *Gerardii***. Mycotaxon 119: 483-485, 2012b.

Van de Putte, K. **Hidden diversity exposed:** a case study of *Lactifluus volemus* sensu lato. PhD dissertation. Ghent University, 2012.

Verbeken, A.; Nuytinck K. J.; Buyck B. **New combinations in *Lactifluus* 1. *L.* subgenera *Edules*, *Lactariopsis* and *Russulopsis*.** Mycotaxon 118: 447-453, 2011.

Verbeken, A., et al. **New combinations in *Lactifluus*. 3. *L.* subgenera *Lactifluus* and *Piperati*.** Mycotaxon 120: 443-450, 2012.

Wartchow, F.; Cavalcanti, M. A. Q. ***Lactarius rupestris*—a new species from the Brazilian semi-arid region.** Mycotaxon 112: 55–63, 2010.

2. CAPÍTULO I

2.1. CHECK LIST DE RUSSULACEAE NO BRASIL

Os estudos da micota brasileira começaram no século XIX com o interesse de naturalistas europeus. Muitos viajantes estrangeiros eram coletores e enviavam materiais para cientistas de diferentes países da Europa, que identificavam os espécimes (Fidalgo 1968). No Sul do Brasil, a maioria das coletas de Agaricales *s. l.* foi feita por Rick durante a primeira metade do século XX (Rick 1961) e por Singer, que realizou coletas na região amazônica nos anos 80 (Singer et al. 1983; Singer 1984).

A família Russulaceae é muito bem conhecida na Europa, América do Norte e recentemente iniciaram-se mais estudos em regiões tropicais da América Central e África. Dados mundiais apontam que existam 650 espécies de *Lactarius*, 750 de *Russula*, 118 de *Lactifluus* e 5 de *Multifurca* (Kirk et al. 2008; Verbeken et al. 2011; Van de Putte 2012). Para o Brasil são conhecidos poucos registros de espécies nativas de Russulaceae.

Com base em dados publicados na literatura, observação de materiais de herbários (INPA, PACA, RB, SP, K, FH, NY) e descrição de novas espécies, foi possível levantar um total de 27 espécies e 2 subespécies de *Russula*, 19 espécies de *Lactarius* e 10 de *Lactifluus* (incluindo as exóticas) distribuídas nos estados do Rio Grande do Sul (RS), Paraná (PR), São Paulo (SP), Minas Gerais (MG), Espírito Santo (ES), Pernambuco (PE), Paraíba (PB), Rio Grande do Norte (RN), Pará (PA), Amazonas (AM) e Rondônia (RO). Parte dos resultados – obtidos durante o ano de 2011 - foram compilados e geraram um *check list* que foi publicado na Lista de Espécies da Flora do Brasil (Neves, M.A. et al 2012).

A lista abaixo é uma atualização da lista dos táxons de *Lactarius*, *Lactifluus* e *Russula* já registrados para o Brasil e publicados na Lista de Espécies da Flora do Brasil, com 23 novas inclusões. As espécies marcadas com * são novas inclusões, as marcadas com # são exóticas coletadas em plantações introduzidas de *Pinus* ou *Eucalyptus* e as marcadas com Φ são espécies novas descritas neste trabalho.

***Lactarius* Pers.**

Lactarius amazonensis Singer

DISTRIBUIÇÃO: AM (Singer et al. 1983), PA (voucher NY)

Lactarius brasiliensis Singer

DISTRIBUIÇÃO: AM (Singer et al. 1983)

Lactarius braunii Rick

DISTRIBUIÇÃO: RS (Rick 1961)

Lactarius deliciosus (L.) Gray

DISTRIBUIÇÃO: RS (Sobestiansky 2005), PR (Meijer 2006)

* *Lactarius distans* Peck

DISTRIBUIÇÃO: RS (Rick 1961, Singer 1983 como *L. hygrophoroides*)

Lactarius gigasporus Singer

DISTRIBUIÇÃO: AM (Singer et al. 1983)

* *Lactarius helvius* Fr.

DISTRIBUIÇÃO: RS (Rick 1961)

Lactarius hygrophoroides Berk. & M. A. Curtis

DISTRIBUIÇÃO: SP (Grandi et al. 1984), PA (voucher NY)

* *Lactarius igapoensis* Singer

DISTRIBUIÇÃO: AM (Singer 1984)

Lactarius mamorensis Singer

DISTRIBUIÇÃO: AM (Singer et al. 1983)

Lactarius pallidipes Singer

DISTRIBUIÇÃO: AM (Singer et al. 1983)

Lactarius paulensis Singer

DISTRIBUIÇÃO: SP (Singer et al. 1983)

Lactarius reticulatus (Berk.) Singer

DISTRIBUIÇÃO: AM (Singer et al. 1983)

Lactarius rufus (Scop.) Fr.

DISTRIBUIÇÃO: RS (Sobestiansky 2005), PR (Meijer 2006)

Lactarius rupestris Wartchow

DISTRIBUIÇÃO: PE (Wartchow 2010)

Lactarius russula Rick

DISTRIBUIÇÃO: RS (Rick 1961)

Lactarius subpallidipes Singer

DISTRIBUIÇÃO: AM (Singer et al. 1983)

Lactarius subreticulatus Singer

DISTRIBUIÇÃO: AM (Singer et al. 1983)

* *Lactarius venezuelanus* Dennis

DISTRIBUIÇÃO: PR (Meijer 2006)

***Lactifluus* (Pers.) Roussel.**

Lactifluus annulifer (Singer) Nuytinck

DISTRIBUIÇÃO: AM (Singer et al. 1983)

Φ *Lactifluus byssinus* Jaeger & M.A. Neves

DISTRIBUIÇÃO: SC (não publicado)

Φ *Lactifluus caseo-odoratus* Jaeger & M.A. Neves

DISTRIBUIÇÃO: SC (não publicado)

Φ *Lactifluus concentricus* Jaeger & M.A. Neves

DISTRIBUIÇÃO: SC (não publicado)

Φ *Lactifluus copiosus* Jaeger & M.A. Neves

DISTRIBUIÇÃO: SC (não publicado)

Φ *Lactifluus dimorphosporus* Jaeger & M.A. Neves

DISTRIBUIÇÃO: SC (não publicado)

* *Lactifluus dunensis* Sá & Wartchow

DISTRIBUIÇÃO: RN (Sá et al. 2013)

Φ *Lactifluus hygrophanus* Jaeger & M.A. Neves

DISTRIBUIÇÃO: SC (não publicado)

Φ *Lactifluus mineirensis* Jaeger & M.A. Neves

DISTRIBUIÇÃO: MG (não publicado)

Φ *Lactifluus panuoides* (Singer) Jaeger & M.A. Neves

DISTRIBUIÇÃO: RJ (não publicado)

***Russula* Pers.**

Russula amnicola Singer

DISTRIBUIÇÃO: AM (Singer et al. 1983)

Φ *Russula ampullicystidiata* Jaeger & M.A. Neves

DISTRIBUIÇÃO: RN (não publicado)

Russula batistae Singer

DISTRIBUIÇÃO: AM (Singer et al. 1983), PB (Singer et al. 1983)

* *Russula campinensis* Singer

DISTRIBUIÇÃO: AM (Singer 1984)

Russula consobrina (Fr.) Fr.

DISTRIBUIÇÃO: SP (voucher SP), RS (Sobestiansky 2005), PR (Meijer 2006)

Φ *Russula dentingerii* Jaeger & M.A. Neves

DISTRIBUIÇÃO: SC (não publicado)

Russula epitheliosa Singer

DISTRIBUIÇÃO: AM (Singer et al. 1983)

Russula foetens (Pers.) Pers.

DISTRIBUIÇÃO: SP (voucher SP)

Φ *Russula fuscopurpurea* Jaeger & M.A. Neves

DISTRIBUIÇÃO: SC (não publicado)

Φ *Russula gelineostrata* Jaeger & M.A. Neves

DISTRIBUIÇÃO: RN (não publicado)

Russula heterochroa Singer

DISTRIBUIÇÃO: AM (Singer et al. 1983)

Russula hygrophytica Pegler

DISTRIBUIÇÃO: SP (voucher SP), RO (Capelari et al. 1988)

Russula leguminosarum Singer

DISTRIBUIÇÃO: AM (Singer et al. 1983)

Φ *Russula lilacinopunctata* Jaeger & M.A. Neves

DISTRIBUIÇÃO: RN (não publicado)

Russula lutea (Huds.) Gray

DISTRIBUIÇÃO: SP (Grandi et al. 1984)

Russula metachromatica subsp. *metachromatica* Singer

DISTRIBUIÇÃO: AM (Singer et al. 1983)

Russula metachromatica subsp. *tarumaensis* Singer

DISTRIBUIÇÃO: AM (Singer et al. 1983)

* *Russula mollis* Quéf.

DISTRIBUIÇÃO: RS (voucher PACA)

Russula nanella Singer

DISTRIBUIÇÃO: AM (Singer et al. 1983)

Russula pachycystis Singer

DISTRIBUIÇÃO: AM (Singer et al. 1983)

Russula pluvialis Singer

DISTRIBUIÇÃO: AM (Singer et al. 1983), PB (Singer et al. 1983)

Russula puiggarii (Speng.) Singer

DISTRIBUIÇÃO: AM (Singer et al. 1983), PR (Meijer 2006), RS (voucher FH como *R. brasiliensis*, Singer et al. 1983), SP (voucher SP), ES (não publicado), PB (não publicado), RJ (não publicado), SC (não publicado)

Φ *Russula rhizomorpha* Jaeger & M.A. Neves

DISTRIBUIÇÃO: SC (não publicado)

Russula semicrema Fr.

DISTRIBUIÇÃO: RS (voucher FH)

Russula sororiicolor Singer

DISTRIBUIÇÃO: AM (Singer et al. 1983)

Russula theissenii Rick

DISTRIBUIÇÃO: RS (Rick 1961)

Φ *Russula thinia* Jaeger & M.A. Neves

DISTRIBUIÇÃO: RN (não publicado)

Russula verna Singer

DISTRIBUIÇÃO: AM (Singer et al. 1983)

2.2. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Capelari, M.; Maziero, R. **Fungos macroscópicos do estado de Rondônia região dos rios Jaru e Ji-Paraná**. Hoehnea 15: 28-36, 1988.

Capelari, M. **Agaricales do Parque Estadual da Ilha do Cardoso**. São Paulo, Universidade de São Paulo. Dissertação de mestrado: 356, 1989.

Meijer, A. A. R. **The preliminary list of the macromycetes from the Brazilian state of Paraná**. Boletim do Museu Botânico Municipal, Curitiba 68: 1-55, 2006.

Fidalgo, O. **Introdução à história da micologia brasileira**. Rickia 3:1-44, 1968.

Grandi, R. A. P.; Guzmán, G.; Bononi, V.L. **Adições às Agaricales (Basidiomycetes) do Parque Estadual das Fontes do Ipiranga, São Paulo, SP, Brasil**. Rickia 11: 27-33, 1984.

Kirk, P. M., et al. **Ainsworth and Bisby's dictionary of the fungi**. Cambridge, CAB International University Press, 2008.

Neves, M.A., et al. **Russulales in Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em :< <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/2012/FB000024> >, 2012.

Rick, J. **Basidiomycetes Eubasidii in Rio Grande do Sul, Brasília**. Iheringia 8: 363-365, 1961

Singer, R. **Tropical Russulaceae II. Lactarius section Panuoidei**. Nova Hedwigia 40: 435-452, 1984.

Singer, R.; Araujo, I.; Ivory M. H. **Ectotrophically Mycorrhizal Fungi of the Neotropical Lowlands, Especially Central Amazonia**. Nova Hedwigia. Lubrecht & Cramer Ltd, 1983.

Singer, R.; Araujo, I. **Litter decomposing and ectomycorrhizal Basidiomycetes in an Igapó forest**. Plant Systematics and Evolution 153: 107-117, 1986.

Van de Putte, K., et al. **Exposing hidden diversity by concordant genealogies and morphology – a study of the *Lactifluus volemus* (Russulales) species complex in Sikkim Himalaya**. Fungal Diversity 55(1): 171-194, 2012.

Verbeken, A.; Nuytinck K. J.; Buyck B. **New combinations in *Lactifluus* 1. *L.* subgenera *Edules*, *Lactariopsis* and *Russulopsis***. Mycotaxon 118: 447-453, 2011.

Wartchow, F.; Cavalcanti, M. A. Q. *Lactarius rupestris*—a new species from the Brazilian semi-arid region. Mycotaxon 112: 55-63, 2010.

3. CAPÍTULO II

3.1. ARTIGO: New and interesting species of *Russula* from Brazil

* Artigo a ser submetido para publicação na revista Mycologia

New and interesting species of *Russula* from Brazil

Melissa Jaeger^{1,2} & Maria Alice Neves¹

Universidade Federal de Santa Catarina, Departamento de Botânica, Micolab,
88040-900, Florianópolis, SC, Brazil

¹Programa de Pós-graduação em Biologia de Fungos, Algas e Plantas

²Corresponding author. Email: melissawj@gmail.com

Abstract: Eight species of *Russula* are described from Brazil. Seven are new to science, *R. ampullicystidiata*, *R. dentingerii*, *R. fuscopurpurea*, *R. gelineostrata*, *R. lilacinopunctata*, *R. rhizomorpha* and *R. thinia*. *Russula puiggarii*, the most common and more widespread species in the genus from Brazil, is also described and is registered for the first time to the States of Espírito Santo, Santa Catarina, Rio de Janeiro and Paraíba. Color images of the basidiomes, illustrations of the microscopic structures and SEM of the spores are presented for each species.

Key Words: biodiversity, Neotropics, Russulaceae, systematics

INTRODUCTION

The members of Russulaceae form conspicuous basidiomes, are recognized for their importance in the forest ecosystems and for their role as symbiotic organisms. *Russula* Pers. is a genus of basidiomycete macrofungi and one of the most common genera of gilled mushrooms in the world. About 750 species are known worldwide, but because some geographic regions remain underexplored, the actual number of species is presumably significantly higher (Kirk et al 2008). Species of *Russula* have never been thoroughly inventoried in the Neotropics and despite the high biodiversity, the knowledge regarding this group of fungi is little. Most studies focused on selected areas, such as Martinique (Pegler & Singer 1980), Panama (Buyck et al. 2002, Hennicke et al. 2008), Venezuela (Dennis 1970, Buyck 1990) and Trinidad (Singer 1952) thanks to the efforts of international research groups. Other countries however have been almost totally neglected due to the lack of trained local mycologists. Twenty native species and two subspecies of *Russula* were reported from Brazil, while 12 species and 2 subspecies have been reported from central Amazonia by Singer (Singer et al. 1983, Singer et al. 1986), who worked primarily in Igapó forests and “campinarana” (forests on white sand). Four species of the genus have been collected in Rio Grande do Sul (Rick 1961), two in Paraná (Meijer 2006), two in São Paulo (Grandi et al 1984, Capelari 1989) and one species is known from Rondônia (Capelari et al 1988). In this paper 8 taxa are described from Brazil: seven are species new to science and one is a new record for Espírito Santo,

Paraíba, Rio de Janeiro and Santa Catarina states. Here we present color photographs, line drawings of microscopic features, and SEM spore photographs of the species of *Russula* known from Brazil.

MATERIALS AND METHODS

Sampling and Morphology

The present inventory is the result of collecting trips from different parts of Brazil. All specimens were collected by the authors and described and photographed under daylight conditions. The collections were studied macro- and microscopically following traditional mycological methods (Largent 1986, Largent et al. 1977). Color codes (e.g. oac900) follow Kramer (2004) and were noted for species that were observed when fresh. All microscopic observations and measurements (except for basidiospores) were made in ammoniacal Congo red, after a short aqueous KOH pretreatment to improve tissue dissociation and matrix dissolution. Observations and measurements of basidiospores were made in Melzer's reagent. Measurements are based on 20 spores. In the basidiospores descriptions, Q is the mean length/width quotient. Line drawings were made with the aid of a drawing tube. Original drawings for all elements of the hymenia were made at X 1000. In the figures, the scale bar for the line drawings corresponds to 10 μ m. To perform the scanning electron microscopy (SEM) studies of spores, fragments of the hymenophore were removed from dried basidiomata, mounted on aluminum stubs with carbon adhesive tabs, and coated with 30 nm of gold with a sputter coater (Balzers SCD030 – Balzers Union FL9496). The basidiospores were examined with a JSM-6360LV scanning electron microscope operating at 10 keV. The specimens are deposited at Herbarium FLOR. Herbarium abbreviations follow Thiers (continuously updated).

TAXONOMY

1. *Russula ampullicystidiata* Jaeger & M.A. Neves sp. nov.

FIGS. 1, 9-A.

***Mycobank:* XXX**

Etymology: ampulla (flask-like bladder) + cystidium (cystidium) due to the presence of ampulliform dermatocystidia of the pileipellis

Type: Brazil, Rio Grande do Norte, Natal, Parque das Dunas, 26 April 2008, *Neves* 229 (Holotype UFRN, isotypes FLOR and HUEFS).

On sandy soil, pileus pale gold, lamella whitish, close, basidiospores 7-8 X 5.5-6.5 μ m, subglobose to broadly ellipsoid, ornamentation verrucose to echinulate, suprapellis subtrichodermal, intermixed with

dermatocystidia, with cylindrical-clavate to subventricose or ampulliform terminal cells and arising from chains of 1-3 swollen to spherical-elongated cells or from multiseptate hyphae base.

Pileus in young specimens pulvinate, tending to appanate to depressed when mature, color ranging from pale gold to chestnut color (oac815 to oac710), discolored in the center when mature, up to 42 mm wide, surface smooth to finely pruinose, viscid in young specimens, margin striate. *Lamellae* whitish to cream color, close, adnexed to emarginate, regular, lamellulae present. Spore print not obtained. *Stipe* white, finely longitudinally fibrillose, equal to flexuous, up to 29 x 8 mm, rhizomorphs at the base. In groups on sandy soil in the dunes. Odor and taste unknown.

Basidiospores 7-8 X 5.5-6.5 μm , subglobose to broadly ellipsoid ($Q = 1,21$), with amylaceous verrucose to echinulate ornamentation, warts or spines with rounded apex, of different sizes, projecting 0.4 to 1.0 μm , without connecting lines or rarely with fine lines, plage not very distinct, hilar appendices up to 2 μm . *Hymenophoral trama* consisting of rounded spherocysts intermixed with irregular hyphae. Basidia 4-spored, up to 40 μm . Macrocystidia and cystidia abundant and inconspicuous, up to 55 μm , not too deep into the trama, cylindrical-clavate to filiform or ventricose, apex rounded, acute or capitated, with granular or droplets contents, negative or light brown in sulphobenzaldehyde. Cheilocystidia cylindrical to sinuous, rounded or capitated at the apex. *Pileipellis* consisting of a gelatinized subtrichodermal suprapellis, uplifted hyphae apices intermixed with dermatocystidia, with cylindrical-clavate to subventricose or ampulliform terminal cells and arising from chains of 1-3 swollen to spherical-elongated cells or from multiseptate hyphae base; gelatinized mediopellis of prostate hyphae, slightly interwoven; subpellis consisting of a fuscous layer of flattened and parallel repent hyphae, slightly gelatinized.

Materials examined: BRAZIL. RIO GRANDE DO NORTE: Natal, Parque das Dunas, 26 April 2008, Neves 229 (FLOR).

Additional materials examined: BRAZIL. AMAZONAS: Estrada Manaus-Caracaraí km 45, 25 June 1980, Singer B12123 (INPA, HOLOTYPE of *Russula pachycystis*).

Notes: *Russula ampullicystidiata* can be compared to *Russula pachycystis* Singer, but the latter has pileipellis with hair-like hyphae in clusters and larger spores. Macroscopically it is close to *R. heterochroa* Singer, but this one has fusoid to ampulaceous macrocystidia and subglobose spores with amyloid suprahilar spot. The description of *Russula marronina* Pegler also resembles *R. ampullicystidiata*, but *R. marronina* has bigger spores and a non-gelatinized pileipellis (Pegler & Singer 1980).

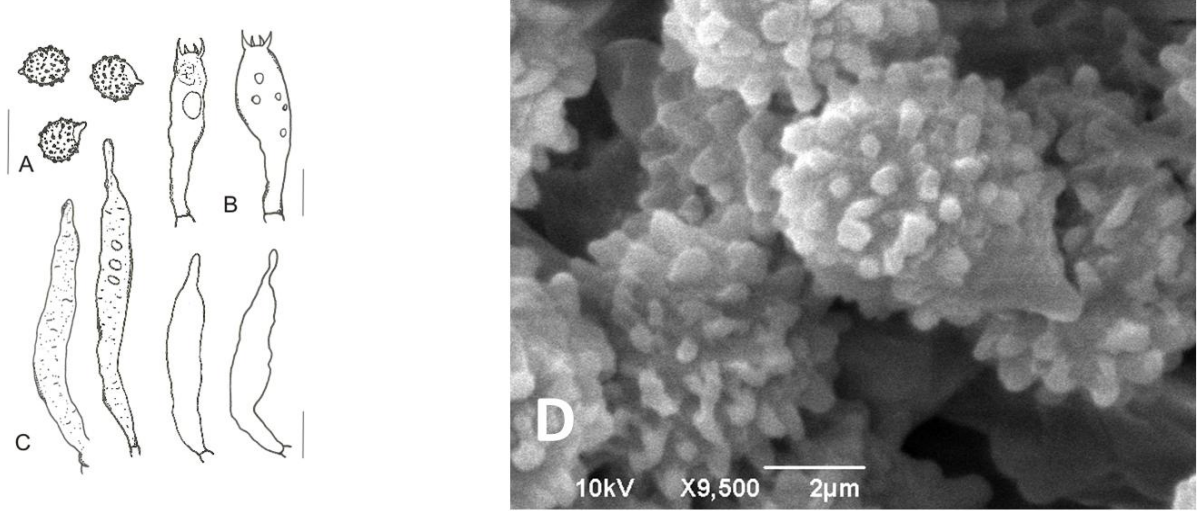


FIG. 1. *Russula ampullicystidiata*. A. Basidiospores. B. Basidia. C. Macrocytidia. D. SEM of basidiospores. (A-C: Scale bar = 10 μ m).

2. *Russula dentingerii* Jaeger & M.A. Neves sp. nov.

FIGS. 2, 9-B.

***Mycobank:* XXX**

Etimology: in honor of Bryn Dentinger, who helped collecting specimens.

Type: Brazil, Santa Catarina, Florianópolis, Pântano do Sul, Lagoinha do Leste Trail, 04 January 2012, *Jaeger* MJ113 (Holotype FLOR).

Pileus bright red when young, overall appearance pinkish to ferruginous when mature, when magnifying the background color is cream with granular scales dark red. Lamellae concolorous with pileus, dark red, in young specimens and cream or more yellowish when bruised in mature ones, adnexed when young and decurrent when mature. Pseudocystidia up to 110 µm, cylindric, clavate or obclavate. Basidiospores (5.5)6-6.5 x 5.5-6, subglobose to globose, ornamentation of rounded spines, without connecting lines. Suprapellis of dermatocystidia subhymeniform, clavate, raising from spherical or ampulaceous cells intermixed with lacticiferous hyphae projecting like pseudodermatocystidia and large spherocysts. Abundant red crystals above all elements of suprapellis, like incrustation or free, that are unchanging even in water or KOH.

Basidiomata growing in groups, single or caespitose, in soil on the Atlantic Forest.

Pileus 15-50 mm wide, convex to pulvinate in the youngers and plane to depressed when mature, bright red (oac656 or oac621) when young, pinkish (oac667, oac652 or oac666) or more ferruginous (oac658) in overall appearance when mature, when magnifying the background color is cream with granular scales dark red (oac621) that are bigger in the center and smaller towards to margin. Margin initially straight to decurved, becoming straight to uplifted in mature, entire or shallowly striate when mature. *Lamellae* concolorous with pileus, dark red in young specimens and cream (oac816) and been more yellowish (oac812) when bruised in the mature, adnexed when young and decurrent in the mature, close to crowded, intermixed with lamellulae of different lengths irregularly placed, margin entire. Spore print not observed. *Stipe* 30-48 mm long, 4-6 mm thick, concolorous with pileus, central, equal or tapering downwards in the youngers and slightly clavate when mature, texture firm, context whitish, changing to yellowish when injured, firm to spongy. *Latex* scanty or absent. Odor pleasant, taste a little acrid. *Basidiomata* growing in groups, single or caespitose, on soil in Atlantic Forest.

Basidiospores (5.5)6-6.5 x 5.5-6 µm, Q = 1.11, subglobose to globose, ornamentation amyloid, up to 0.6 µm high, composed of rounded spines, without connecting lines, suprahilar plage smooth or with few tiny ornamentations, slightly amyloid or inamyloid, hilar appendix 1.2-1.6 µm. *Basidia* 38-65 x 5-9 µm, clavate, four sterigmata. Pseudocystidia abundant, up to 110 µm, cylindric, clavate or obclavate, apex rounded or capitate, with refractive and granular contents, staining lightly brown in sulphobenzaldehyde, not forming a gloeopleuro system in the center of the trama. Cheilocystidia subclavate, with rounded or capitate apex, thin-walled. *Hymenophoral trama* near the edge of lamellae with numerous small to medium sized (7 x 8 µm) spherocysts, rounded to irregular, larger

half of the trama with large (15 x 20 µm) and irregular spherocysts intermixed with few laticiferous hyphae, not staining in sulphobenzaldehyde. *Pileipellis* consisting of three layers, suprapellis of dermatocystidia subhymeniform, clavate, often with yellow content in KOH, that raising from spherical or ampullaceous cells intermixed with laticiferous hyphae that projecting like pseudodermatocystidia and large spherocysts. Abundant red crystals above suprapellis elements, like incrustation or free, that are unchanging even in water or KOH. These same crystals appear above the hymenial elements in young specimens. Mediopellis of large spherical spherocysts intermixed with laticiferous hyphae and subpellis consisting of prostrated hyphae.

Materials examined: BRAZIL. SANTA CATARINA: Florianópolis, Pântano do Sul, Lagoinha do Leste Trail, 04 January 2012, *Jaeger* MJ113; 18 December 2011, *Neves* 1044; Lagoa da Conceição, Morro da Lagoa Trail, 16 March 2011, *Jaeger* MJ46; *Jaeger* MJ53 (FLOR).

Notes: This taxon is characterized for the bright red color when young and pinkish overall appearance when mature. Macroscopically have abundant red crystals above suprapellis and hymenial elements. Does not present similarities with other species of *Russula* known from the neotropics.

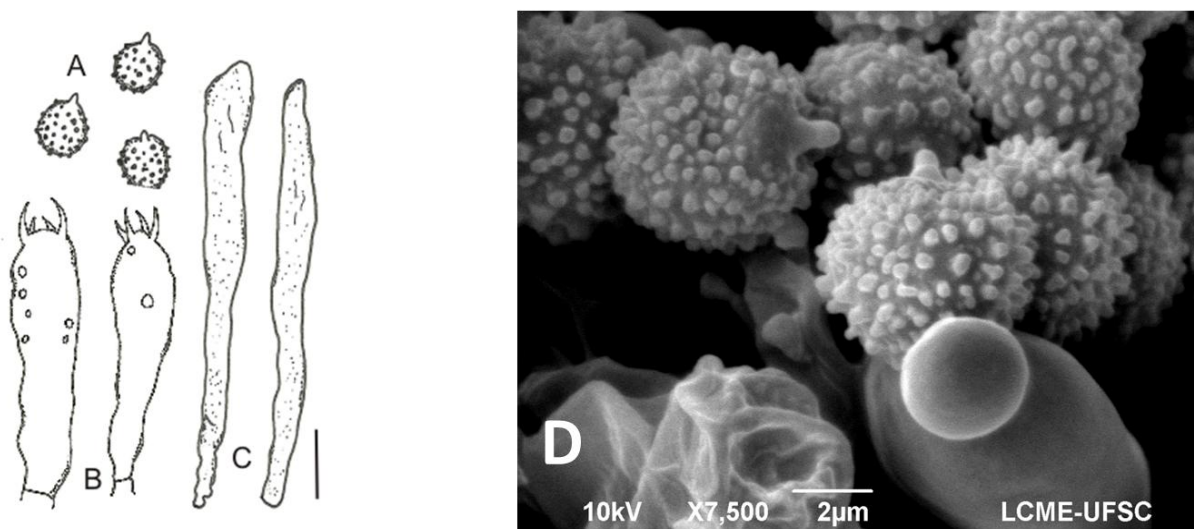


FIG. 2. *Russula dentingerii*. A. Basidiospores. B. Basidia. C. Macrocystidia. D. SEM of basidiospores. (A-C: Scale bar = 10 µm).

3. *Russula fuscopurpurea* Jaeger & M.A. Neves sp. nov.

FIGS. 3, 9-C.

Mycobank: XXX

Etymology: fuscus (darkness color) + purpureus (purple), due to the purple color of the surface of the pileus.

Type: Brazil, Santa Catarina, Florianópolis, Pântano do Sul, Lagoinha do Leste Trail, 04 January 2012, *Jaeger* MJ116 (Holotype FLOR).

Pileus purple, margin pectinate, lamellae whitish, stipe purple, basidiospores 7-7.5(8.0) X 6-7 μm , subglobose, ornamentation echinulate, macrocystidia abundant, suprapellis of dermatocystidia raising from spherocysts.

Pileus pulvinate in young specimens to plane-convex with depressed center when mature, 13-20 mm diam., purple (oac364/363) sometimes discolored at the center (oac428/430/427), often with a concentric zone near the margin, with acute margin that becomes sulcate and distinctly pectinate 3-6 mm from rim of the margin when dry, surface subvelutinous to punctate. Context white, unchanging when injured. Odor pleasing. *Lamellae* white to cream (oac816), adnate to decurrent, close to crowded, intermixed with lamellulae, regular to simple forked. *Stipe* usually entirely purple, paler than the pileus, violet punctate, equal to flexuous, 14-22 X 2-4 mm, with more than 10 cavities, basal mycelium absent. Solitary or in pairs on soil on Atlantic Forest.

Basidiospores 7-7.5(8.0) X 6-7 μm , subglobose (Q = 1,10), heterotropic, with amylaceous echinulate ornamentation, spines or points, projecting up to 0.7 μm , without connecting lines, with a distinct plage, sometimes not totally smooth, with some little ornamentations. *Basidia* 35-40 X 7-10 μm , 4-spored, with droplets contents. *Macrocystidia* abundant, up to 55 μm , cheilocystidia clavate to cylindrical, rounded at the apex, with granular amorphous content, negative in sulphobenzaldehyde. *Hymenophoral trama* with sphaerocysts subangular (heteromerous trama). *Pileipellis* consisting of a suprapellis of dermatocystidia raising from spherocysts, normally from chains of rounded spherocysts like a *Virescens*-structure, sometimes more ampullaceous cells, the dermatocystidia medium sized 15-40 μm , in clusters, not present in all sections, cylindrical, rounded at the apex, with granular content; subpellis consisting of horizontal hyphae, but more ascendant just below the suprapellis, with non-gelatinized matrix, accompanied by abundant oleiferous hyphae. *Stipitipellis* consisting of interwoven hyphae in a slightly gelatinous layer, appressed and septate hyphae and oleiferous hyphae with thick-walled, more ascendant at the margin but not forming trichodermium.

Materials examined: BRAZIL. SANTA CATARINA: Florianópolis, Pântano do Sul, Lagoinha do Leste Trail, 04 January 2012, Jaeger MJ116 & Jaeger MJ117 (FLOR), Santo Amaro da Imperatriz, Plaza Caldas Da Imperatriz Resort & Spa Trail, 13 May 2012, Jaeger MJ140 (FLOR).

Additional materials examined: BRAZIL. AMAZONAS: Manaus, in secondary forest, 5 June 1977, Singer B 9933 (INPA, HOLOTYPUS of *Russula pluvialis*).

Notes: *Russula fuscopurpurea* seems to be closely related to the Amazonian *R. pluvialis*, which has the same size and spore type but differs in the pileipellis that is three layered in *R. pluvialis* and two layered in *R. fuscopurpurea*. The spherocysts in *R. fuscopurpurea* are intermixed with hyphae, while in *R. pluvialis* there are more interwoven hyphae. The macrocystida are also smaller in *R. fuscopurpurea*.

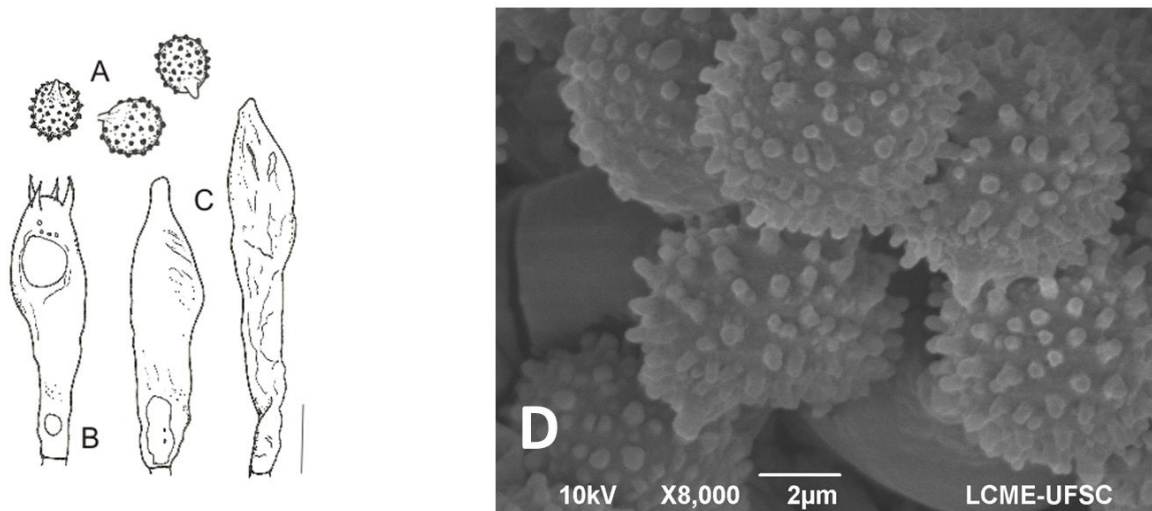


FIG. 3. *Russula fuscopurpurea*. A. Basidiospores. B. Basidium. C. Macrocytidia. D. SEM of basidiospores. (A-C: Scale bar = 10 µm).

4. *Russula gelineostrata* Jaeger & M.A. Neves sp. nov.

FIGS. 4, 9-D.

Mycobank: XXX

Etymology: gelineus (jelly-like) + stratum (layer), due to gelatinous layer covering the whole pileus

Type: Brazil, Rio Grande do Norte, Natal, Parque das Dunas, 24 April 2008, *Neves* 222 (Holotype UFRN, FLOR, HUEFS).

On sandy soil, pileus pale yellow, lamellae concolor, crowded, basidiospores 8-10 X 6-8 µm, subglobose to broadly ellipsoid, ornamentation verrucose, forming a complete network, cystidia scarce, gelatinous layer over the suprapellis.

Pileus umbilicate to plane depressed in the center, cream to pale yellow (oac900), smooth and slightly viscid in the center, up to 40 mm wide, margin regular to finely striate. *Lamellae* concolor with pileus, very crowded adnexed to subdecurrent, regular and forked. Spore print not obtained. *Stipe* concolor with pileus, finely longitudinally fibrillose, equal to flexuous at base, up to 36 x 10 mm. In groups on sandy soil in the dunes. Odor and taste unknown.

Basidiospores 8-10 X 6-8 µm, subglobose to broadly ellipsoid ($Q = 1,28$), with an amylaceous verrucose ornamentation, warts rounded or irregular, projecting 0.5 to 0.9 µm, with thin connecting lines not forming a complete network, plage smooth, hilar appendices up to 1.9 µm. *Hymenophoral trama* consisting of irregular and twisted hyphae, interwoven, compressed or forming lacunae. Basidia 4-spored. *Cystidia* scarce, not projecting beyond the hymenium, cylindrical-clavate, negative in sulphobenzaldehyde. Cheilocystidia not numerous, filiform to cylindrical, rounded at the apex. *Pileipellis* consisting of a gelatinized layer over the suprapellis, the latter composed by a slightly gelatinized layer with terminal filamentous twisted, hair-like hyphae, with rounded to pyriform basal cells, intermixed with dermatopseudocystidium rising from the mediopellis, with

granular to guttate contents, cylindrical with capitate apex, forming a trichodermal layer; gelatinized mediopellis of prostrate hyphae, parallel to interwoven, some hyphae with granular contents; subpellis or hypodermium consisting of a fuscous layer, melleous in KOH, of parallel repent hyphae, slightly gelatinized.

Material examined: BRAZIL. RIO GRANDE DO NORTE: Natal, Parque das Dunas, 24 April 2008, *Neves* 222 (FLOR).

Additional material examined: BRAZIL. AMAZONAS: Estrada Manaus-Caracaraí km 45, 25 June 1980, *Singer* B12123 (INPA, HOLOTYPE of *Russula pachycystis*). RIO GRANDE DO SUL: São Leopoldo, 1929, *Rick* & 1930, *Rick* (PACA, as *Russula theissenii*).

Notes: This species can be macroscopically confused with *Russula pachycystis* Singer. However *R. pachycystis* differs by the subglobose to globose spores with spiny ornamentation, and by the absence of a gelatinized layer on the pileipellis. It could also be related to *R. theissenii* Rick, which can be distinguished from *R. gelineostrata* by the spore ornamentation forming a complete network, the pileipellis with prostrate hyphae in the subpellis layer, and by the presence of dermatocystidia in the suprapellis.

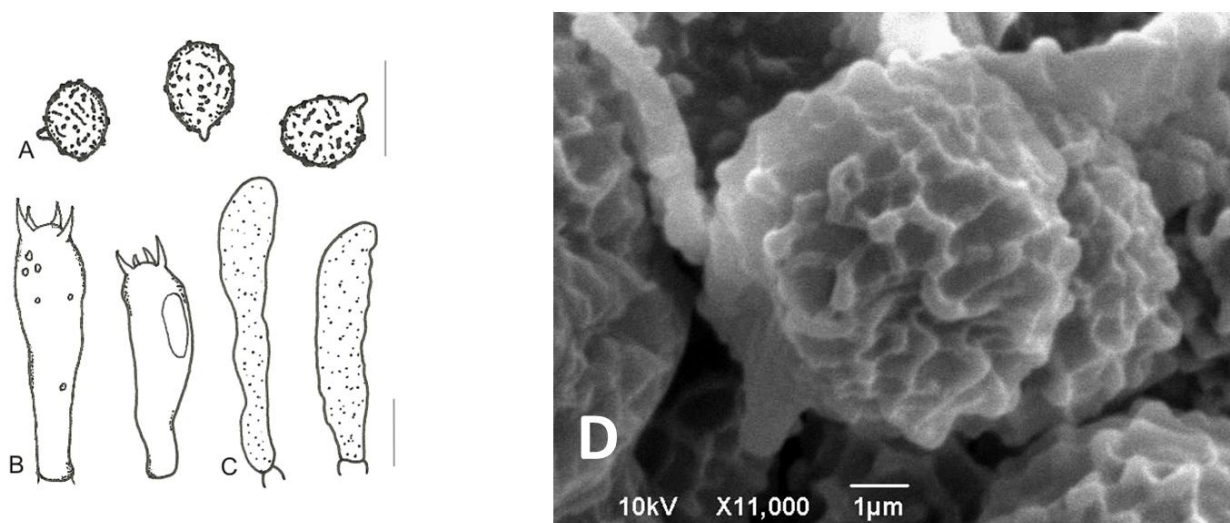


FIG. 4. *Russula gelineostrata*. A. Basidiospores. B. Basidia. C. Cystidia. D. SEM of basidiospores. (A-C: Scale bar = 10 µm).

5. *Russula lilacinopunctata* Jaeger & M.A. Neves sp. nov.

FIGS. 5, 9-E.

Mycobank: XXX

Etymology: lilacinum (lilac) + punctatus (dotted), due to the lilac punctate fibrils of the basidiome.

Type: Brazil, Rio Grande do Norte, Natal, Parque das Dunas, 24 April 2008, *Neves* 220 (Holotype UFRN, FLOR, HUEFS).

On sandy soil, pileus cream background color, overall lilac punctate, lamellae cream, close to crowded, basidiospores 6-8 X 5-6.5 μm , subglobose to broadly ellipsoid, echinulate ornamentation, macrocystidia abundant, ventricose to cylindrical-clavate, cheilocystidia, pileipellis with terminal filamentous septate hyphae, single or in fascicles, with dermatopseudocystidia.

Pileus depressed to umbilicate, cream background color, overall lilac to grayish (oac438 to oac403) punctate fibrils, peeling off in some parts, up to 35 mm wide, surface smooth, margin finely striate. *Lamellae* white to cream (almost oac900), very close to crowded, adnexed to subdecurrent, lamellulae present, regular or forked. Spore print not obtained. *Stipe* concolor with pileus but paler, minutely lilac punctate, base often pale-whitish becoming yellow when bruised, longitudinally fibrillose, equal to flexuous at the base, up to 35 x 8 mm, context whitish, with more than 8 cavities, basal mycelium absent. In groups on sandy soil on the dunes. Odor and taste unknown.

Basidiospores 6-8 X 5-6.5 μm , subglobose to broadly ellipsoid ($Q = 1,20$), amylaceous echinulate ornamentation, spines with rounded apex, projecting 0.4 to 0.8 μm , without connecting lines, a distinct plage without an amyloid spot, sometimes not totally smooth, some little ornamentation present, hilar appendices up to 1.5 μm . *Hymenophoral trama* consisting of irregular and twisted hyphae, swelled in some parts, forming lacunae, with abundant cytoplasmic content. *Basidia* 4-spored. *Macrocystidia* abundant, up to 70 μm , diversily shaped, ventricose to cylindrical-clavate, apex rounded to obtuse or capitated, negative in sulphobenzaldehyde. *Cheilocystidia* present, the longer ventricose to sinuous, rounded at the apex, the shorter cylindrical. *Pileipellis* consisting of a suprapellis with terminal filamentous septate hyphae, single or in fascicles, many filled with granular or amorphous contents (dermatopseudocystidia), forming an ixotrichodermal layer; gelatinized mediopellis of interwoven and swelled hyphae, some with granular contents; subpellis consisting of a fuscous layer of parallel repent hyphae, slightly gelatinized.

Materials examined: BRAZIL. RIO GRANDE DO NORTE: Natal, Parque das Dunas, 24 April 2008, Neves 220 (FLOR).

Additional materials examined: BRAZIL. AMAZONAS: Punta Negra, 30 December 1978, Singer 11452 (INPA, HOLOTYPE of *Russula amnicola*), Manaus, in secondary forest, 5 June 1977, Singer B 9933 (INPA, HOLOTYPE of *Russula pluvialis*).

Notes: This species resembles *Russula pluvialis* Singer, however *R. pluvialis* has larger spores with connecting lines between the ornamentation that differ from the spores of *R. lilacinopunctata* that do not have connecting lines. The non-gelatinized pileipellis and the presence of dermatocystidia in *R. pluvialis* also help to separate it from *R. lilacinopunctata*. Another species that can be confused with *R. lilacinopunctata* is *R. amnicola* Singer, from Amazonia. *Russula amnicola* differs from *R. lilacinopunctata* by the color of the stipe, the amyloid reaction on the suprahilar spot, the absence of the gelatinized suprapellis, and the scarce macrocystidia that are

more abundant in *R. lilacinopunctata*. None of the cited species were collected in sandy soils, like *R. lilacinopunctata*.

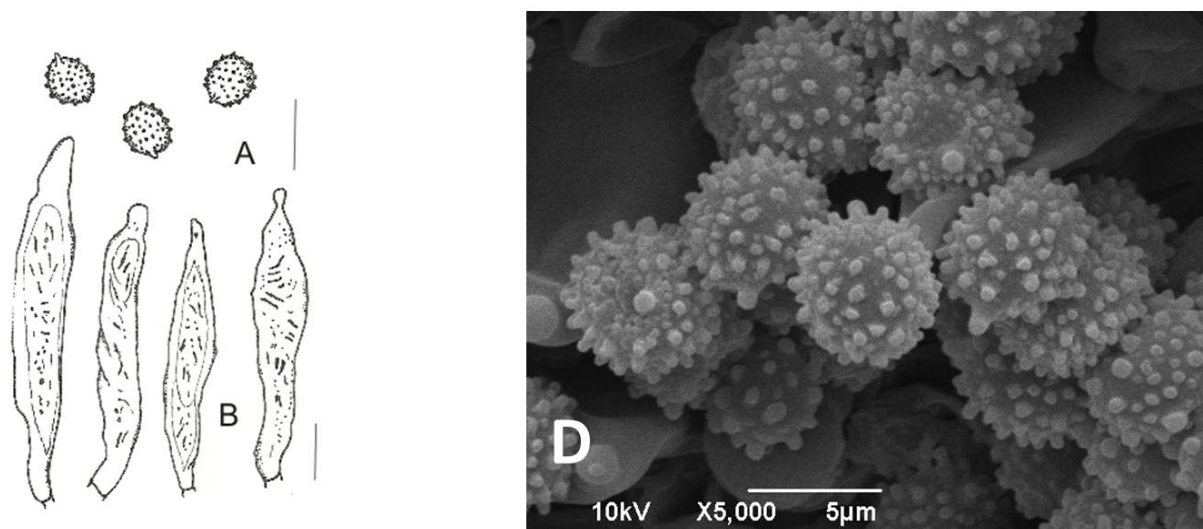


FIG. 5. *Russula lilacinopunctata*. A. Basidiospores. B. Macrocystidia. D. SEM of basidiospores. (A-C: Scale bars = 10 µm).

6. *Russula puiggarii* (Spegazzini) Singer, Lilloa 23: 239. (1950, published 1952).

FIGS. 6, 9-F.

≡ *Clitocybe puiggarii* Spegazzini, Bol. Acad. Nac. Cienc. Cordoba 9: 389, 1889.

= *R. brasiliensis* Singer, Pap. Mich. Acad. Sci. Arts & Lett. 32: 108, 1948.

= *R. hygrophytica* Pegler, in Pegler & Singer, Mycotaxon 12(1): 92, 1980.

Pileus 24-75 mm wide, depressed to plane and depressed at the center, glabrous, smooth or eventually viscid in the center, sulcate to pectinate from mid-radius to the margin, a darkest zone separated from the pectinate marginal zone, pellis separable at margin, the cuticle cracking along the striae, grooves white, pellis dark gray (oac721, oac641) at the center and often more light gray-brownish (oac771, oac773 or oac722) at the margin. Context white, unchanging when injured, thin to almost absent at the margin. *Lamella* whitish to cream-white (almost oac816), varying from adnexed to subdecurrent, subdistant, equal, lamellulae absent, margin entire. Spore print not observed. *Stipe* 30-50 mm long, 4-10 mm thick, equal to tapering upwards, slightly longitudinally striated, whitish to light gray (oac773), context white, with 6 to 10 or more cavities inside. Weak and slightly unpleasant odor, taste not observed. *Basidiomata* solitary, with extremely tough white rhizomorphs, in clay soil, frequently under stones in the middle of the trail.

Basidiospores 7,5-9(-10) x 7,5-8,5(-10) µm, Q = 1,01 globose to slightly subglobose, ornamentation like conical spines or consisting of low crests, interconnected by fine lines, forming an incomplete or entire reticulum, suprahilar plage weakly amyloid or inamyloid, smooth. *Basidia* 40-63 x 10-15 µm, clavate, 4-spored, sterigmata 3-6 µm long. *Macrocystidia* dispersed, up to 80 µm, cylindrical to ventricose, varying from clavate, mucronate, capitulate or strangulated, thin walls

and yellowish granular or amorphous contents, brown staining in sulphobenzaldehyde. Cheilocystidia smaller than macrocystidia. *Lamellar trama* with large sphaerocysts and cylindric hyphae, gloeopleura system absent. *Pileipellis* consisting of a suprapellis with septate terminal hyphal cells intermixed with abundant clavate, capitulate, strangulated or obtuse dermatocystidia, with banded or acute contents, sometimes descending into the subpellis; gelatinized mediopellis 20–250 µm wide, composed by thin-walled hyphae with scattered strongly refringent terminal fragments; subpellis 10–40 µm wide, consisting of a fuscous layer of parallel repent hyphae, slightly gelatinized. *Stipitipellis* similar to pileipellis. External layer with abundant caulocystidia, clavate to capitulate. Deeper layer with parallel and interwoven hyphae.

Materials examined: BRAZIL. AMAZONAS: Manaus, Igarapé Tarumãzinho, 08 Feb 1980, Singer B12003, (INPA), Ramal do Novo Amanhecer, canal do Tarumãzinho, Apr 2012, Komura DLK394 (INPA). ESPÍRITO SANTO: Santa Teresa, Reserva Biológica Augusto Ruschi, Trilha da Preguiça, 04 Dec 2012, Magnago ACM516, Estrada Casa das Pedras, 04 Dec 2012, Magnago ACM525, (FLOR). PARAÍBA: João Pessoa, Campus I UFPB, 12 Mar 2009, Neves 392 & Oliveira JLO01, (FLOR), Mataraca, restinga, 02 Set 2009, Neves 497, (FLOR). RIO DE JANEIRO: Teresópolis, PARNA Serra dos Órgãos, trilha Mozart Catão, 07 Dez 2011, Neves 980, Neves 972 (RB). SANTA CATARINA: Corupá, Rota das Cachoeiras, 03 Mar 2011, Neves 701, (FLOR), Florianópolis, Cacupé, Unidade de Conservação Ambiental Desterro, 20 Dez 2011, Jaeger MJ98, Pântano do Sul, Lagoinha do Leste Trail, 04 Jan 2012, Jaeger MJ111, Jaeger MJ118 & Jaeger MJ122, Lagoa da Conceição, Morro da Lagoa Trail, 02 Dez 2011, Jaeger MJ84 & Jaeger MJ91, 16 Feb 2012, Jaeger MJ130, 11 May 2012, Magnago ACM332, Magnago ACM335 & Magnago ACM343 (FLOR).

Additional materials examined: BRAZIL. RIO GRANDE DO SUL: on soil, 1906, Rick (FH, HOLOTYPE of *R. brasiliensis*), São Leopoldo, 1929, Rick, 1930, Rick & 1933, Rick (PACA, as *R. pectinata*). FRENCH ANTILLES. MARTINIQUE: Pendrix Plateau, Aug 1976, Fiard 506/F (K, HOLOTYPE of *R. hygrophytica*).

Notes: Specimens from several regions of Brazil were studied and compared to the type collection. This species presents a variation in the width of the mediopellis that can be due to different weather conditions where it grows. Pileocystidia with various shapes were observed in the hymenium of the Brazilian specimens, as noted by Buyck (2002) on specimens from Panamá. Specimens of *Russula pectinata* sensu Rick from Southern Brazil were transferred to *R. brasiliensis* Singer by Singer in 1946 (1948). In 1953 Singer affirmed that the concept of *R. pectinata* by Rick coincided with *R. puiggarii*, without mentioning *R. brasiliensis*. We agree with Buyck (2002) that *R. brasiliensis* and *R. hygrophytica* are synonyms of *R. puiggarii*. Singer (1983) mentioned that collections of *R. pectinata* from Southern Brazil by others (sic) are mostly *R. pectinatoides* Peck. However there are no collections of *R. pectinata* from Brazil but the ones by Rick (now treated

under *R. puiggarii*). The comparison of specimens of *R. pectinata* sensu Rick to the type of *R. pectinatoides* makes clear that these are two distinct taxa. *Russula pectinatoides* has never been registered from Brazil and occurs in North America and Europe. *Russula puiggarii* is registered for the first time to Paraíba, Rio de Janeiro, and Santa Catarina.

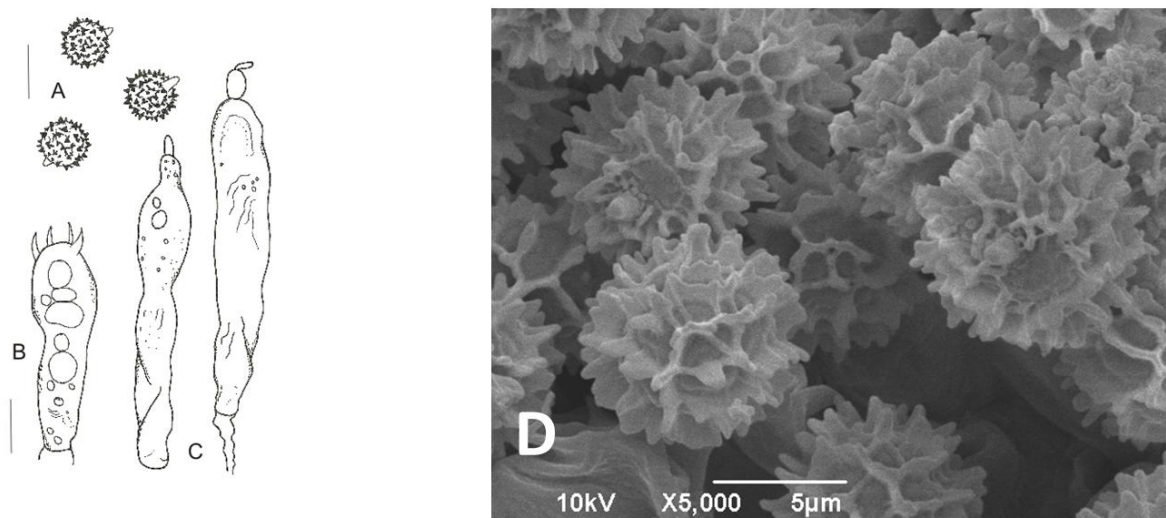


FIG. 6. *Russula puiggarii*. A. Basidiospores. B. Basidium. C. Macrocystidia. D. SEM of basidiospores. (A-C: Scale bar = 10 µm).

7. *Russula rhizomorpha* Jaeger & M.A. Neves sp. nov.

FIGS. 7, 9-G.

Mycobank: XXX

Etymology: rhizomorpha (rhizomorph), due to the presence of thick rhizomorphs

Type: Santa Catarina, Florianópolis, Pântano do Sul, Lagoinha do Leste Trail, 04 January 2012, Jaeger MJ114.

Pileus stained irregularly of pale orange to ferruginous, basidiospores 9-7 x 7-8,5 µm, globose to subglobose, ornamentation spines or conical warts to crests, with connecting lines forming an incomplete or complete reticulation, macrocystidia abundant, thick-walled, subcylindrical, suprapellis consisting of a ixotrichodermial layer, mediopellis gelatinized, subpellis of prostrate hyphae intermixed with scarce and large spherocysts.

Pileus parabolic or convex to plane, 24 to 34 mm diameter, off-white to cream (oac816 to oac857), stained irregularly of pale orange to ferruginous (oac758), margin concolorous, surface finely squamose, margin regular to slightly crenate, straight to incurved. *Lamella* concolorous with pileus, off-white to cream, unchanging when bruised, adnexed to subdecurrent, narrow to moderately broad, subdistant to close, lamellula present, margin entire to finely eroded. Spore print not obtained. *Stipe* 18-5 x 4-7 mm, off-white to cream, stained like the pileus, finely fibrous and longitudinally striate, slightly excentric, equal to tapering at the base, with thick rhizomorphs. Context whitish, unchanging, spongy and with 6 or more cavities. On soil at the Atlantic Forest.

Basidiospores 9-7 x 7-8,5 μm , globose to subglobose $Q = 1,04$, with amylaceous ornamentations, spines or conical warts to crests, with connecting lines forming an incomplete or usually complete reticulation, projecting 0.7 – 1.5 μm , plage with amyloid ornamentation, with 1.5 - 2.5 μm hilar appendix. *Hymenophoral trama* with spherocysts in groups like rosettes, few dispersed, intermixed with few oleiferous hyphae, in edge-near portion spherocysts often smaller and scarce prostate and more flattened hyphae. *Macrocystidia* abundant, thick-walled, subcylindrical, often ventricose to sinuose, rounded-obtuse at the top, with droplets and needle-like contents, not at the center of the trama, up to 90 μm , light brown staining in sulphobenzaldehyde but not staining the center of trama. *Cheilocystidia* abundant, clavate or filiform to cylindrical, apex rounded to obtuse or capitate. *Pileipellis* with 3 layers, suprapellis consisting of a ixotrichodermial layer, but the extensions are not very erect, a few disorganized, with rounded to obtuse apex, with no septations; mediopellis is a gelatinized layer of scarce oleiferous hyphae intermixed with interwoven hyphae, some swollen in the middle; subpellis is a layer of prostate hyphae intermixed with scarce and large spherocysts.

Materials examined: BRAZIL. SANTA CATARINA: Florianópolis, Pântano do Sul, Lagoinha do Leste Trail, 27 January 2011, Jaeger MJ06 (FLOR), 04 January 2012, Jaeger MJ114 & Jaeger MJ121.

Additional materials examined: BRAZIL. AMAZONAS: Estrada Manaus-Caracaraí km 45, 25 June 1980, Singer B12123 (INPA, HOLOTYPE of *Russula pachycystis*), Estrada Manaus-Caracaraí km 125, 21 May 1978, Singer B11051 (INPA, *Russula metachromatica* ssp. *metachromatica*).

Notes: *Russula metachromatica* ssp. *metachromatica* and *Russula pachycystis* are species with white yellowish pileus that are macroscopically similar to *R. rhizomorpha*. When compared to *R. rhizomorpha*, *Russula metachromatica* ssp. *metachromatica* presents a pileipellis with more abundant longer thick walled dermatocystidia; spores with similar dimensions but ornamentations that do not form a complete network. *Russula pachycystis* has less abundant macrocystidia and spores that are globose to subglobose with a suprahilar amyloid spot.

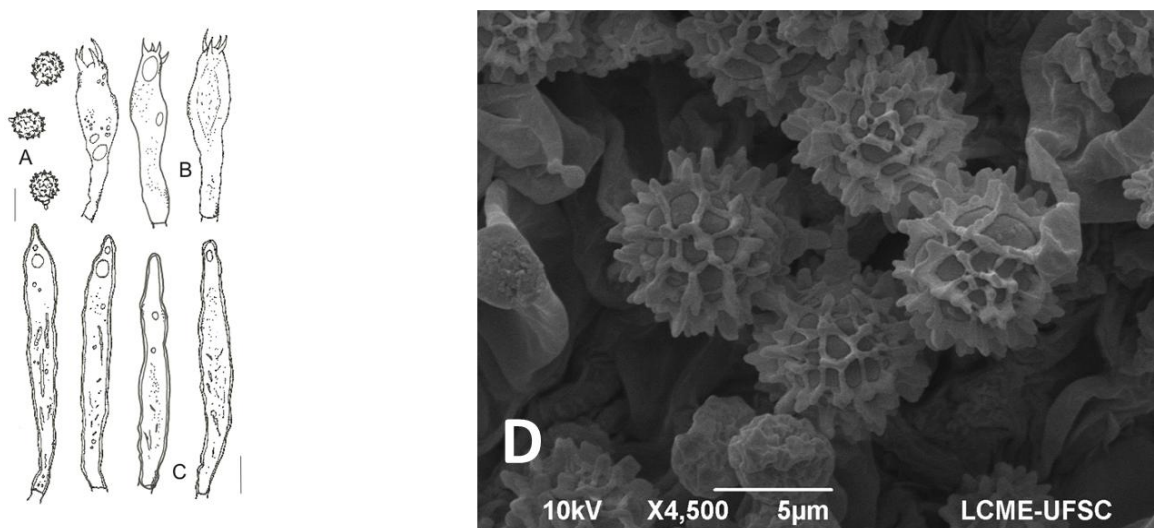


FIG. 7. *Russula rhizomorpha*. A. Basidiospores. B. Basidia. C. Macrocytidia. D. SEM of basidiospores. (A-C: Scale bar = 10 µm).

8. *Russula thinia* Jaeger & M.A. Neves sp. nov.

FIGS. 8, 9-H.

Mycobank: XXX

Etymology: thinium (dune), referring to the habitat and to the fact that the basidiomes grow buried in the sandy soil.

Type: Brazil, Rio Grande do Norte, Natal, Parque das Dunas, 24 April 2008, Neves 221 (Holotype UFRN, isotypes FLOR and HUEFS).

On sandy soil, pileus light green, lamella white, very close to crowded, basidiospores (8)9-10,5 X 6-7(7.5) µm, ellipsoid, heterotropic, verrucose ornamentation, macrocytidia abundant, cheilocystidia, trichodermal suprapellis, subpelis gelatinized with prostrate and interwoven swelled hyphae, intermixed with oleiferous hyphae.

Pileus convex to plane and depressed in the center, 45 mm wide, light green to olivaceous (oac116, oac879), discolored in some parts, surface smooth to finely pruinose, margin regular, straight to incurved. *Lamella* white, very close to crowded, adnexed to subdecurrent, regular, different sizes of lamellulae present. Spore print not obtained. *Stipe* up to 24x12 mm, white, longitudinally fibrillose, equal, context white, hollow. In groups, covered by sandy soil in the dunes. Odor and taste unknown.

Basidiospores (8)9-10,5 X 6-7(7.5) µm, ellipsoid ($Q = 1,46$), heterotropic, with an amyloseous verrucose ornamentation, warts rounded or irregular, projecting 0.4 to 0.6 µm, with thin connecting lines, plage smooth, hilar appendices up to 2.4 µm. *Hymenophoral trama* consisting of interwoven irregular hyphae, swelled and very compacted, with short fragments between septa, intermixed with oleiferous hyphae; at the base of the hymenium these hyphae are intermixed with small spherocysts. *Macrocytidia* abundant, of different sizes, up to 120 µm, numerous, ventricose to cylindrical or

cylindrical-clavate, apex rounded to obtuse or capitated, with a lot of granular contents, light brown in sulphobenzaldehyde. Cheilocystidia abundant, the longer ventricose to cylindrical, rounded or obtuse at the apex, and the shorter cylindrical-clavate. *Pileipellis* consisting of a suprapellis slightly gelatinized, with interwoven hyphae with terminal filamentous hyphae with granular contents, not septated, hair-like, forming an trichodermal layer; subpellis consisting of a gelatinized layer of prostrate and interwoven swelled hyphae, intermixed with oleiferous hyphae.

Materials examined: BRAZIL. RIO GRANDE DO NORTE: Natal, Parque das Dunas, 24 April 2008, Neves 221 (FLOR).

Notes: This taxon could be macroscopically confused to *Russula aeruginea* Fr., an European species associated to *Betula* spp. (Betulaceae) and conifers. However, *Russula aeruginea* has smaller spores with spiny ornamentations that are very projected and dermatocystidia in the pileipellis that differ from the ones from *R. thinia*.

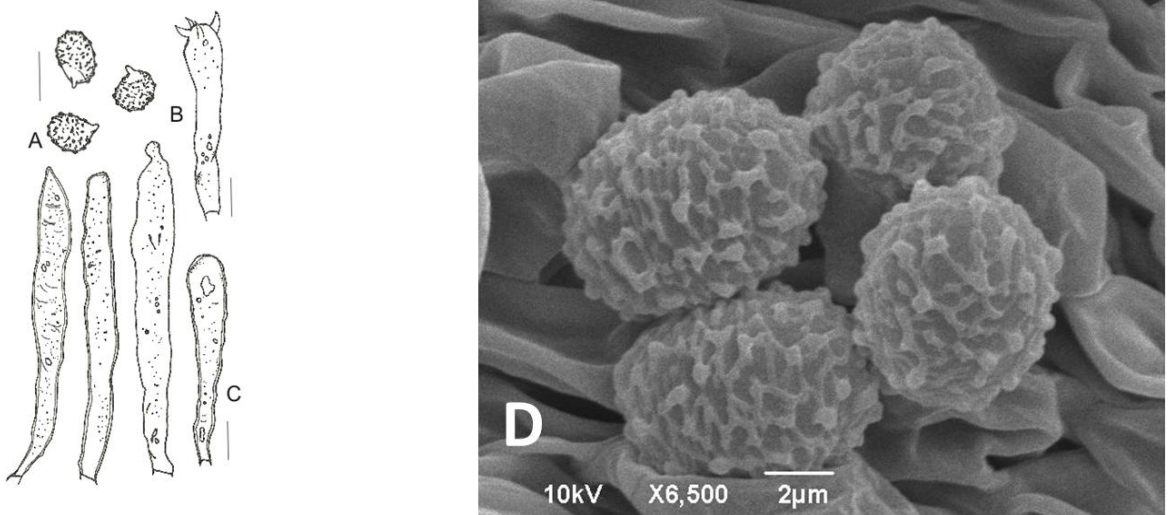


FIG. 8. *Russula thinia*. A. Basidiospores. B. Basidium. C. Macrocystidia. D. SEM of basidiospores. (A-C: Scale bar = 10 µm).



FIG. 9. A – H Basidiomata. A. *Russula ampullicystidiata*. B. *R. dentingerii*. C. *R. fuscopurpurata*. D. *R. gelineostrata*. E. *R. lilacinopunctata*. F. *R. puiggarii*. G. *R. rhizomorpha*. H. *R. thinia*. (Photos A – H courtesy M. A. Neves).

DISCUSSION

Seven new species of *Russula* are reported from Brazil. This study confirms the presence of this group of ectomycorrhizal fungi in the Brazilian tropical and subtropical ecosystems. This supports the findings of other mycologists such as Singer et al. (1983 and 1986) and Rick (1906), who have collected ectotrophic fungi in Brazil.

Russula puiggarii is the most common and widespread species of *Russula* in Brazil. It had been registered in Amazonas by Singer (1983), Rio Grande do Sul by Rick (1961), Rondônia by Capelari & Maziero (as *Russula hygrophytica*, 1988), and São Paulo by Capelari (Capelari 1989). In this work we have obtained new records for Espírito Santo, Paraíba, Rio de Janeiro and Santa Catarina states. This species was also reported from Panama (Buyck 2002) and Martinique (Pegler 1983). The study of specimens of *Russula pectinata* sensu Rick, *Russula hygrophytica*, and all specimens from different regions of Brazil were helpful to better understand the species and put those two latter names in synonymy under *R. puiggarii*. At the same time, the study of numerous collections of *R. puiggarii* showed the morphological variation present in the pileipellis of this species.

Seven species of *Russula* are here described as new to science. This agrees with Hawksworth (1995) that there are millions of species of fungi still to be described and that the diversity in the neotropics and subtropics is probably much higher than what is currently known.

ACKNOWLEDGMENTS

M. Jaeger thanks Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES, Brazil) for financial support during her master thesis; the New York Botanical Garden for the fellowship in LAPI project, and the Farlow Herbarium for a Friends of the Farlow fellowship. We are indebted to the curators of NY, FW, K, PACA, INPA and RB who made collections available for this study. “Laboratório Central de Microscopia Eletrônica” at UFSC for the SEM images. We also thank Altielys Magnago and Larissa Trierveiler-Pereira for providing specimens. Altielys Magnago helped with figures. Nathan Smith made helpful suggestions on the manuscript.

LITERATURE CITED

Buyck, B. (1990). New taxa of tropical *Russula*: Pseudoepitheliosinae subsect. nov. Mycotaxon 39: 317-327.

- Buyck, B. and Ovrebo, C. L. (2002). New and interesting *Russula* species from Panamá. *Mycologia* 94(5): 888-901.
- Capelari, M. and Maziero, R. (1988). Fungos macroscópicos do estado de Rondônia região dos rios Jaru e Ji-Paraná. *Hoehnea* 15: 28-36.
- Capelari, M. (1989). Agaricales do Parque Estadual da Ilha do Cardoso. São Paulo, Universidade de São Paulo. Dissertação de mestrado: 356.
- De Meijer, A. A. R. (2006). The preliminary list of the macromycetes from the Brazilian state of Paraná. *Boletim do Museu Botânico Municipal, Curitiba* 68: 1-55.
- Dennis, R.W.G. (1970). Fungus flora of Venezuela and adjacent countries. *Kew Bull Add ser 3*: 1-531.
- Grandi, R. A. P., Guzmán, G. & Bononi, V.L. (1984). Adições às Agaricales (Basidiomycetes) do Parque Estadual das Fontes do Ipiranga, São Paulo, SP, Brasil. *Rickia* 11: 27-33.
- Hawksworth, D. L., P. M. Kirk, et al. (1995). *Ainsworth and Bisby's dictionary of fungi*. Cambridge, CAB International University Press.
- Hennicke, F. and M. Piepenbring (2008). Critical review of recent records of *Russulaceae* from Panama. *Mycotaxon* 106: 455-467.
- Kirk, P. M., P. F. Cannon, et al. (2008). *Ainsworth and Bisby's dictionary of the fungi*. Cambridge, CAB International University Press.
- Kramer, L.A. 2004. *The Online Auction Color Chart*. ed. Online Auction Color Chart, Company, Stanford. 12 pp.
- Largent, D. L. (1986). *How to Identify Mushrooms to Genus I: Macroscopic features*. Eureka, Mad River Press Inc.
- Largent, D. L., D. Johnson, et al. (1977). *How to Identify Mushrooms to Genus III: Microscopic features*. Eureka, Mad River Press Inc.
- Pegler, D. N. (1983). *Agaric Flora of the Lesser Antilles*. Kew Bull Add ser 9. London: Her Majesty's Stationary Office. 668 p, pl. col. 596-635.
- Pegler, D. N. and Singer, R. (1980). New taxa of *Russula* from the Lesser Antilles. *Mycotaxon* 12: 92-96.
- Rick, J. (1961). Basidiomycetes Eubasidii in Rio Grande do Sul, Brasília. *Iheringia* 8: 363-365.
- Singer, R. (1952). *Russulaceae of Trinidad and Venezuela*. *Kew Bull.* 7: 295-301.
- Singer, R (1953). Type studies on Basidiomycetes VI. *Lilloa* 26: 58-85.
- Singer, R. (1986). *The Agaricales in Modern Taxonomy*. Königstein, Germany, Koeltz Scientific Books.
- Singer, R., I. Araujo, et al. (1983). *Ectotrophically Mycorrhizal Fungi of the Neotropical Lowlands, Especially Central Amazonia*, Lubrecht & Cramer Ltd.

Singer, R. and I. Araujo (1986). Litter decomposing and ectomycorrhizal *Basidiomycetes* in an Igapó forest. *Plant Systematics and Evolution* 153: 107-117.

Thiers, B. (continuously updated). Index Herbariorum: A global directory of public herbaria and associated staff. New York Botanical Garden's Virtual Herbarium. <http://sweetgum.nybg.org/ih/> accessed in 10 September 2012.

4. CAPÍTULO III

4.1. ARTIGO: **The genus *Lactifluus* in Brazil**

* Artigo a ser submetido para publicação na revista Mycologia

The genus *Lactifluus* in Brazil

Melissa Jaeger^{1,2} & Maria Alice Neves¹

Universidade Federal de Santa Catarina, Departamento de Botânica, Micolab,
88040-900, Florianópolis, SC, Brazil

¹Programa de Pós-graduação em Biologia de Fungos, Algas e Plantas

²Corresponding author. Email: melissawj@gmail.com

Abstract: This paper provides descriptions of *Lactifluus* ssp. from Brazil. Nine taxa are discussed in detail. Seven species are described as new to the science *Lf. byssinus*, *Lf. caseo-odoratus*, *Lf. concentricus*, *Lf. copiosus*, *Lf. dimorphosporus*, *Lf. hygrophanus* and *Lf. mineirensis*. After a morphological study a new combination to *Lactifluus panuoides* is proposed. This species was first described and collected by Singer (1952) and is a new record to Brasil. Color images of the basidiomes, microscopic illustrations and SEM of the spores are presented for each species. A key to the species of *Lactifluus* from Brazil is provided.

Key Words: biodiversity, Neotropics, Russulaceae, systematics

INTRODUCTION

A molecular phylogenetic study of the Russulaceae changed the taxonomic concept of the family based on morphology. Buyck et al. (2008) have revealed that *Russula* Pers. and *Lactarius* Pers. are in fact paraphyletic and that the family should be split up into four closely related genera. Therefore, the new and distinct genus *Multifurca* Buyck & Hofstetter was created from a few of former of *Lactarius* and *Russula* species. These changes resulted in a monophyletic group of the remaining *Russula* species. *Lactarius* remained paraphyletic and was split up into two major clades (Buyck et al 2008, Stubbe et al. 2012). The subgenera *Lactarius* subg. *Piperites*, *Lactarius* subg. *Russularia*, and *Lactarius* subg. *Plinthogalus* constitute the larger genus *Lactarius* sensu novo, while the former subgenera *Lactarius* subg. *Lactarius*, *Lactarius* subg. *Lactariopsis*, *Lactarius* subg. *Russulopsis*, *Lactarius* subg. *Lactifluus*, and *Lactarius* subg. *Gerardii*, and the former section *Lactarius* sect. *Edules* constitute the genus *Lactifluus* (Pers.) Roussel. (Verbeken et al. 2011).

According to Van de Putte (2012), one of the most striking differences between *Lactarius* and *Lactifluus* is the geographical distribution. While *Lactarius* contains mainly species from boreal and temperate regions, *Lactifluus*, on the other hand, contains only a few temperate species, and has its main distribution in the tropics and subtropics. A hundred and nine more species are now accepted as new combinations (Stubbe et al. 2012b, Verbeken et al. 2011, 2012, Van de Putte

2012). According to Van de Putte (2012), about 20 South American species belong to *Lactifluus*, based on the original morphological description, but since the author did not study them morphologically or molecularly, the new combinations were not proposed. Only one South American species, *Lactarius annulifer*, was recombined by Verbeken et al. (2011). But as subtropical and tropical regions are increasingly being explored, the total number of *Lactifluus* species is expected to increase significantly in the forthcoming years.

Van de Putte (2012) reported that neither *Lactifluus* nor *Lactarius* can be defined by synapomorphic characters. There are, however, some morphological trends that could help when trying to identify them. *Lactifluus* contains many species with veiled and velvety to tomentose caps, as well as all known annulate species. Zonate and viscous to glutinous caps, on the other hand, are completely absent in *Lactifluus*, but commonly found in *Lactarius*. So far, pleurotoid species have only been recorded in *Lactifluus*, whereas angiocarpic species have only been found in *Lactarius*. Microscopically, hymenophoral sphaerocytes, thick-walled hymenial cystidia (lamprocystidia), as well as thick-walled elements in the pileipellis are more typical in *Lactifluus*. Thin-walled hymenial cystidia with needle-like to granular content, so called macrocystidia, are typical in species of *Russula*, but are also found in some species of *Lactarius* (Van de Putte 2012).

Species of *Lactifluus* have never been thoroughly inventoried in the Neotropics and despite the high biodiversity, the knowledge regarding this group of fungi is poorly known. Most studies were focused on selected areas while other countries however have been almost totally neglected due to the lack of trained local mycologists.

Sixteen native species of *Lactarius* were reported from Brazil, 10 of which have been reported from central Amazonia by Singer (Singer et al. 1983, Singer 1984), who worked primarily in the igapó and campinarana forests. Four species have been collected in Rio Grande do Sul by Rick (Rick 1961), one was registered by Grandi et al. (1984) from São Paulo and one from Pernambuco (Wartchow 2010). Recently Sá et al. (2013) published a new species from Brazil, *Lactifluus dunensis*, which is also described below. In this paper nine taxa are described from Brazil: seven are new species to science and one is a new combination. In this article we present color photographs, line drawings of the microscopic features, and SEM photographs of the spores.

To avoid confusion between both genera, we will continue using the abbreviation ‘*L.*’ for *Lactarius* and ‘*Lf.*’ for *Lactifluus* in this paper.

MATERIALS AND METHODS

Sampling and Morphology

The specimens were collected in several regions of Brazil. Microscopic studies included observation of types or authentic material. Color codes in descriptions are based on Kramer (2004). The microscopy methods and terminology follow Largent (1986) and Largent et al. (1977), and included observations made on slides mounted in 5% KOH, Congo Red and in Melzer's reagent. Line drawings were made with the aid of a drawing tube. In basidiospores description, Q is the quotient between the length and width. In the figures, the scale bar for the line drawings corresponds to 10 μm . Spores for scanning electron microscope (SEM) were prepared by mounting fragments of dried lamellae on aluminum stubs, then coating the samples with 30 nm of gold with a sputter coater (Balzers SCD030 – Balzers Union FL9496). The basidiospores were examined with a JSM-6360LV scanning electron microscope operating at 10 keV. The specimens are deposited at Herbarium FLOR and RB. Herbarium abbreviations follow Index Herbariorum (Thiers, continuously updated).

TAXONOMY

1. *Lactifluus byssinus* Jaeger & M.A. Neves sp. nov.

FIGS. 1, 10-A.

***Mycobank:* XXX**

Etimology: byssinus (cottony), due to the white cottony mycelium at the base of the stipe

Type: Brazil, Santa Catarina, Florianópolis, Cacupé, Unidade de Conservação Ambiental Desterro, 20 December 2011, *Jaeger* MJ99 (Holotype FLOR).

Pileus and stipe dark brown, velutinous, margin incurved, lamellae whitish-cream, basidiospores 7-8 x 6-6.5 μm , broadly ellipsoid, ornamentation of rounded spines, without connecting lines, pseudocystidia abundant, up to 85 μm , cylindric to cylindrical-clavate, apex rounded, suprapellis consisting of two layers, a dense palisade of thick-walled hairs arising from spherocysts, up to 50 μm long, subcylindrical to subfusiform, with rounded apex, intermixed with subclavate dermatocystidia, subpellis composed of rounded to elongated or irregular shaped, thick-walled cells, latex white, bruising of light brown when injured.

Pileus 24 mm wide, plane and slightly depressed in the center, dark brown (oac721) with some lighter failures, velutinous surface, margin incurved. *Lamellae* whitish-cream (oac815), decurrent to subdecurrent, close to crowded, forked, intermixed with lamellulae of different sizes, margin entire and smooth. Spore print not observed. *Stipe* 15 mm long, 3-4 mm thick, concolorous with pileus, velutinous, central and tapering downwards, context whitish, changing to light brown when injured, context with more than 6 cavities, white and cottony mycelium at the base of the stipe. *Latex* white, bruising of light brown when injured. *Basidiomata* solitary, on soil with litter.

Basidiospores 7-8 x 6-6.5 μm , $Q = 1.25$, broadly ellipsoid, ornamentation amyloid, up to 0.7 μm , composed of rounded spines, without connecting lines, suprahilar plage smooth or with few tiny ornamentations, hilar appendix 1.4-1.7 μm . *Basidia* 36-50 μm , clavate to cylindrical-clavate, four sterigmata. *Pseudocystidia* abundant, up to 85 μm , cylindrical to cylindrical-clavate, apex rounded, with refractive and granular contents, staining brown in sulphobenzaldehyde, not forming a gloeopleuro system in the center of trama. *Cheilocystidia* cylindrical, with rounded apex, thin-walled. *Hymenophoral trama* near the edge of lamellae with numerous small and irregular spherocysts, larger half of the trama with small spherocysts intermixed with laticiferous hyphae, not staining in sulphobenzaldehyde. *Pileipellis* consisting of two layers, a dense palisade of thick-walled hairs arising from spherocysts (lampropalisade), up to 50 μm long, subcylindrical to subfusiform, with rounded apex, with yellow content in KOH, intermixed with subclavate dermatocystidia. Subpellis composed of rounded to elongated or irregularly shaped, thick-walled cells.

Materials examined: BRAZIL. SANTA CATARINA: Florianópolis, Cacupé, Unidade de Conservação Ambiental Desterro, 20 December 2011, *Jaeger* MJ99 (Holotype FLOR).

Notes: The diagnostic characters of this species include its small size, abundant pseudocystidia, thick-walled hairs that form a lampropalisade suprapellis. The latter is a morphological character described for other species in the genus and agrees to the pileus a velutinous appearance.

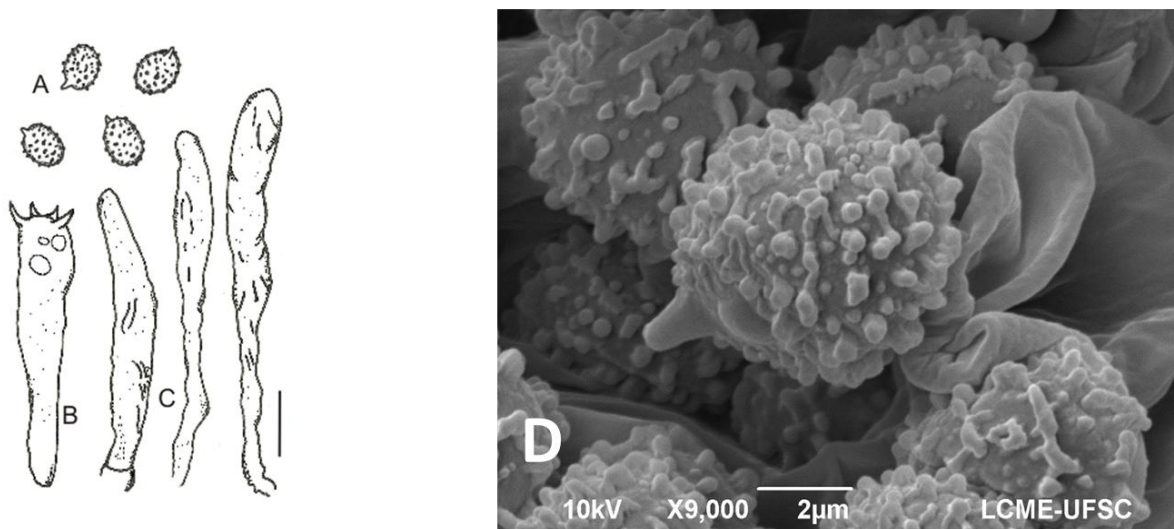


FIG. 1. *Lactifluus byssinus*. A. Basidiospores. B. Basidia. C. Pseudocystidia. D. SEM of basidiospores. (A-C: Scale bar = 10 μm).

2. *Lactifluus caseo-odoratus* Jaeger & M.A. Neves sp. nov.

FIGS. 2, 10-B.

Mycobank: XXX

Etymology: caseus (cheese) + odoratus (smell), due to the smell of cheese when fresh

Type: Brazil, Santa Catarina, Florianópolis, Pântano do Sul, Lagoinha do Leste Trail, 04 January 2012, *Jaeger* MJ120 (Holotype FLOR).

On litter soil, solitary, pileus, tan to light orange in the center and paler to the margin, light salmon to pale orange, surface pruinose to velvety, rugose in the center and peeling off at the margin, lamellae cream to pale orange, adnexed to subdecurrent, close, intermixed with lamellulae, stipe pale orange, rugulose, remains of partial veil present as a membranous ring around the superior apex of the stipe, basidiospores 9-10 x 7-9 μm , $Q = 1.20$, subglobose to short ellipsoid, ornamentation irregular rounded warts, with thin connecting lines, partial or more often complete reticulum, suprapellis of dermatocystidia of numerous different shapes intermixed with abundant filiforms hairs projecting up to 40 μm , more often without septation, thick-walled, mediopellis slightly gelatinized with spherocyst, rounded, massed to very close, intermixed with hyphae that are extensions of hairs, subpellis slightly gelatinized of hyphae prostrate, odor like Camembert cheese.

Pileus 90 mm diameter, depressed to infundibuliform, tan to light orange in the center (oac674) and getting paler to the margin, light salmon to pale orange (oac655), surface pruinose to velvety, rugose in the center and peeling off at the margin. Margin straight to arched, entire to slightly appendiculate. *Lamellae* cream to pale orange (oac815), adnexed to subdecurrent, narrow to medium broad, close, intermixed with lamellulae of different lengths, margin entire. Spore print not observed. *Stipe* 45 mm long, 15 to 17 mm thick, pale orange (oac682), central, tapering downwards, surface very pruinose with white dust, rugulose, with remains of partial veil present as a membranous ring around the superior apex of the stipe, context whitish, unchanging when injured, no cavities but spongy to firm, basal mycelium white cottony and with whitish rhizomorphs. *Latex* absent or not observed. Odor like Camembert cheese, taste not observed. *Basidiomata* single, in litter soil.

Basidiospores 9-10 x 7-9 μm , $Q = 1.20$, subglobose to short ellipsoid, orthotropic, ornamentation amyloid, up to 0.6 μm high, composed of irregular rounded warts, with thin connecting lines, partial or more often complete reticulum, suprahilar plage inamyloid, hilar appendix 1.5-2.6 μm . *Basidia* 40-55 x 7-10 μm , elongate, subclavate to clavate, in KOH with a lot of droplets content, getting out 12-20 μm from hymenium line, two or mainly four sterigmata up to 10 μm long. *Pseudocystidia* uncommon, thin-walled, up to 65 μm , cylindrical to narrowly clavate, rounded apex, with droplets contents, looking like the basidioles. Cheilocystidia subventricose in the margin of lamella mixed with basidia, not sterile. *Hymenophoral trama* near the edge of lamellae with numerous small sized spherocysts, elongated to irregular, intermixed with flattened hyphae, larger half of the trama with large spherocysts intermixed with abundant laticiferous hyphae,

conspicuous but more concentrate in the middle of trama, 5-10 μm wide, gloeopleura system ramified, yellowish refractive in KOH and staining dark brown in sulphobenzaldehyde. *Suprapellis* of dermatocystidia of numerous different shapes, clavate, ventricose, pyriform or sphaeropedunculate, with rounded to obtuse apex, intermixed with abundant filiforms hairs projecting up to 40 μm , more often without septation, thick-walled. *Mediopellis* is a slightly gelatinized layer with spherocyst of different sizes, rounded, massed to very close, intermixed with hyphae that are extensions of hairs. The *subpellis* is a slightly gelatinized layer of the prolongation of hyphae prostrate. *Caulipellis* consists of a layer slightly gelatinized of a few spherocysts intermixed with prostrate hyphae which give rise to hairs, thick-walled, ramified or not, filiforms or even shapeless, mixed with caulocystidia tiny and with different forms.

Material examined: BRAZIL. SANTA CATARINA: Florianópolis, Pântano do Sul, Lagoinha do Leste Trail, 04 January 2012, *Jaeger* MJ120 (Holotype FLOR).

Additional materials examined: BRAZIL. AMAZONAS: Estrada Manaus-Caracaraí km 45, 31 January 1980, *Brandley & Singer* B12087 (Holotype INPA).

Notes: This species resembles *Lactifluus annulifer* (*Singer*) *Nuytinck*, but differs in some characteristics. The basidiospores of *Lf. annulifer* species are bigger and the macrocystidia are numerous, while in *Lf. caseo-odoratus* they are uncommon. The pileipellis looks to be similar, with thick-walled hairs-like, but they are longer in *Lf. annulifer* (up to 187 μm vs. up to 40 μm in *Lf. caseo-odoratus*). *Lactifluus caseo-odoratus* looks close related to *Lf. dimorphosporus*. Both present a ring, have suprapellis with thick-walled hair-like filaments, and the pseudocystidia are uncommon. But they differ in the basidiospores, which are dimorphic in *Lf. dimorphosporus*, but not in *Lf. caseo-odoratus*.

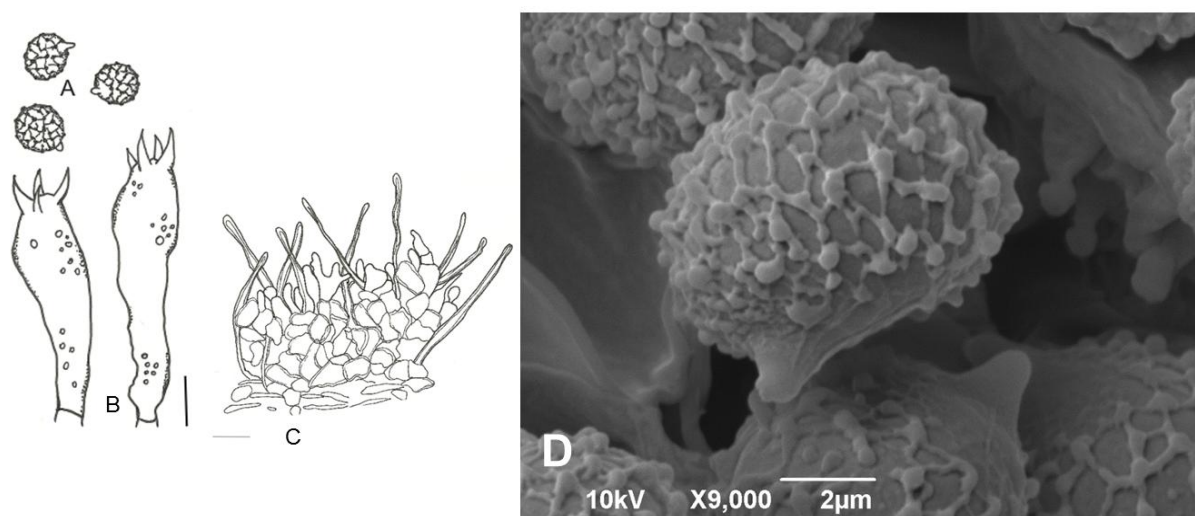


FIG. 2. *Lactifluus caseo-odoratus*. A. Basidiospores. B. Basidia. C. Pileipellis. D. SEM of basidiospores. (A-B: Scale bar = 10 μm , C: Scale bar = 25 μm).

3. *Lactifluus concentricus* *Jaeger & M.A. Neves* sp. nov.

Mycobank: XXX

Etymology: concentricus (concentric), due to the concentric cracks on the pileus surface

Type: Brazil, Santa Catarina, Florianópolis, Cacupé, Unidade de Conservação Ambiental Desterro, 20 December 2011, *Jaeger* MJ100 (Holotype FLOR).

Pileus bright orange to yellowish, darker in the center, with round cracks in mature basidomata, not viscid. Lamellae cream, decurrent, large broad, distant, intermixed with lamellulae of two lengths, stipe light orange, basidiospores 7-8.5 x 5.5-6, ellipsoid, ornamentation irregular rounded to elongated, often aligned warts, with thin connecting lines, partial or complete reticulum, suprahilar plage weakly amyloid or inamyloid, with few and tiny ornamentations, pseudocystidia abundant, up to 110 µm, cylindric to narrowly clavate, rounded apex, cheilocystidia cylindric to filiforme, suprapellis of dermatocystidia subhymeniform, clavate, subpellis with intermixed hyphae, numerous rounded to irregular spherocysts and abundant laticiferous hyphae, latex scanty and watery, in litter soil.

Pileus 36-85 mm wide, convex to plane in the youngers and depressed to infundibuliform when mature, bright orange (oac679 or oac651), sometimes more yellowish (oac790), center normally darker or unevenly stained, surface smooth to pruinose, with a kind of whitish dust, especially in the youngers, with round cracks in mature, not viscid. Margin decurved to incurved at first and straight to arched in mature, shallowly sulcate. *Lamellae* cream to cream-yellowish (oac857), decurrent, large broad, distant, intermixed with lamellulae of two lengths regularly placed, margin entire. Spore print not observed. *Stipe* 35-52 mm long, 6-14 mm thick, light orange (oac793) to more orange in mature (oac763) and more cream color at the basis, concolorous with lamellae, central to little eccentric, equal to tapering downwards, pruinose, context white, unchanging when injured, firm to spongy and very brittle, basal mycelium white abundant. *Latex* scanty and watery to white, unchanging. Odor inconspicuous, taste bitter to a little acrid. *Basidiomata* in group of 10 or more, like a ring, in litter soil.

Basidiospores 5.5-6 x 7-8.5 µm, $Q = 1.32$, ellipsoid, ornamentation amyloid, up to 0.5 µm high, composed of irregular rounded to elongated, often aligned warts, with thin connecting lines, partial or complete reticulum, suprahilar plage weakly amyloid or inamyloid, with few and tiny ornamentations, hilar appendix 1-1.6 µm. *Basidia* 40-60 x 5-9 µm, elongate, clavate, four sterigmata up to 5 µm long. *Pseudocystidia* abundant, up to 110 µm, cylindric to narrowly clavate, rounded apex, with refractive contents, staining lightly brown in sulphobenzaldehyde. Cheilocystidia cylindric to filiforme with obtuse apex, thin-walled. *Hymenophoral trama* near the edge of lamellae with numerous small to medium sized spherocysts, some elongated to rounded, larger half of the trama with large spherocysts forming an almost pseudoparenchymous. Trama of the pileus intermixed with spherocysts layers with laticiferous hyphae, numerous and conspicuous and more concentrate in the middle of trama, gloeopleura system often ramified, brown staining in

sulphobenzaldehyde. *Suprapellis* of dermatocystidia subhymeniform, clavates, often with dark yellow to brown content in KOH. Subpellis with intermixed hyphae, numerous rounded to irregular spherocysts and abundant laticiferous hyphae with contents, brown staining apex of laticiferous in KOH. *Caulipellis* of caulocystidia clavate to sinuous, larger than dermatocystidia, subtrichodermial, and in deeper layer hyphae interwoven with spherocysts and laticiferous hyphae.

Material examined: BRAZIL. SANTA CATARINA: Florianópolis, Cacupé, Unidade de Conservação Ambiental Desterro, 20 December 2011, *Jaeger* MJ100 (Holotype FLOR).

Additional materials examined: BRAZIL. AMAZONAS: Estrada Manaus-Caracarái km 45, 28 February 1978, *Singer* B10729 (INPA, Holotype of *Lactarius brasiliensis*), km 125, 20 July 1978, *Singer* B11315 (INPA, Holotype of *Lactarius amazonensis*). RIO GRANDE DO SUL: São Leopoldo, *Rick* (PACA 13755, *Lactarius distans*), 1932, *Rick* (PACA 13750, *Lactarius braunii*).

Notes: *Lactifluus concentricus* looks macroscopically similar to *Lactarius amazonensis* *Singer*. However, *L. amazonensis* has bigger spores (7x10 µm) and lacks dermatocystidia on the pileipellis. *Lactarius brasiliensis* *Singer* could also be compared, but the spores in this species are bigger (7 x 9 µm) than those from *Lf. concentricus*, and *L. brasiliensis* lamellae have a different color according to *Singer*'s description. The type collections of *L. brasiliensis* and *L. amazonensis* were not in good condition to do a detailed microscopic study. *Singer* describes an amyloid spot in the spores of *L. brasiliensis* that was not observed in *Lactifluus concentricus*. Macroscopically *Lf. concentricus* looks like *Lactarius hygrophoroides* *Berk. & M.A.Curtis*, but can be differentiated by the hymenophoral trama of *L. hygrophoroides* that has only hyphae and laticiferous hyphae, and abundant latex. The hymenophoral trama of *Lf. concentricus* are formed by numerous spherocysts and the latex is scanty to absent. The pileipellis can be used to distinguish *Lf. concentricus* from *Lactarius distans* *Peck* and *Lactarius braunii* *Rick*. It is pseudotrichodermial with a few spherocysts and interwoven hyphae in *L. distans*, trichodermial with interwoven and prostrated hyphae in *L. braunii*, and intermixed with dermatocystidia and spherocysts in *Lf. concentricus*.

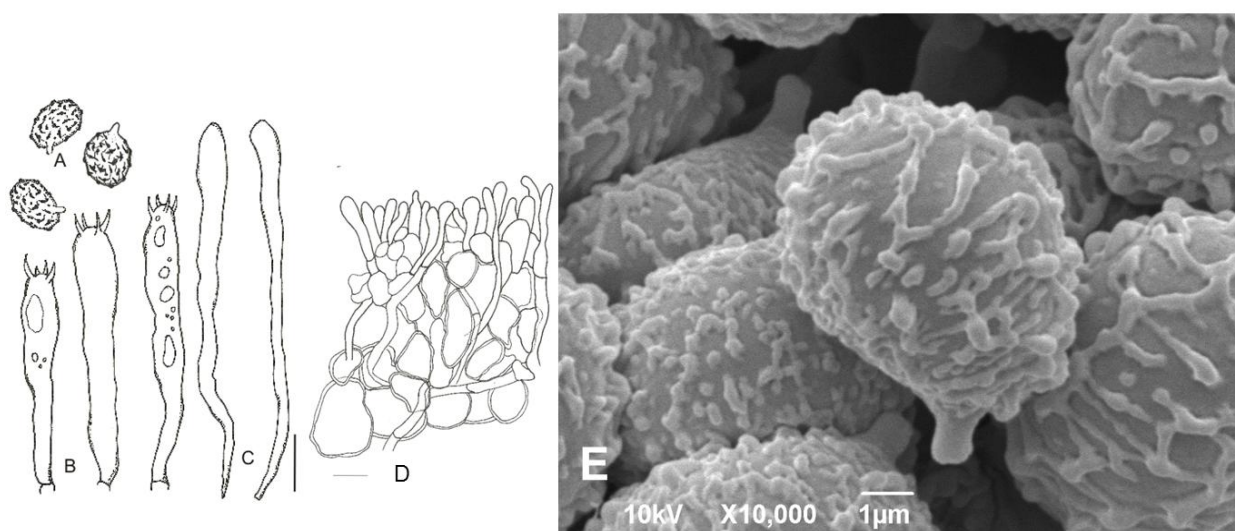


FIG. 3. *Lactifluus concentricus*. A. Basidiospores. B. Basidia. C. Pseudocystidia. D. Pileipellis. E. SEM of basidiospores. (A-D: Scale bar = 10 µm).

4. *Lactifluus copiosus* Jaeger & M.A. Neves sp. nov.

FIGS. 4, 10-D.

Mycobank: XXX

Etymology: copiosus (plentiful), due to its abundance in the place where it was collected

Type: Brazil, Santa Catarina, Florianópolis, Pântano do Sul, Lagoinha do Leste Trail, 04 January 2012, *Jaeger* MJ112 (Holotype FLOR).

Pileus depressed, smooth to pruinose and slightly fibrillose towards the margin, orange-yellowish, margin straight to arched, lamellae cream to yellowish-cream, adnate-decurrent to decurrent, distant, large broad, intermixed with lamellulae, very brittle, stipe light orange to cream, finely pruinose and longitudinally striate, basal mycelium white and cotton-like, basidiospores (6)6.5-7.5 x (11)10-8 µm, ellipsoid, ornamentation irregular rounded warts, with thin connecting lines, partial or complete reticulum, suprapellis of dermatocystidia, thin-walled, cylindrical to filiforme, clavate, aculeate to tibiiform, in clusters, subpellis of large spherocysts, rounded and irregular.

Pileus 40-100 mm diam., depressed, surface smooth to pruinose and slightly fibrillose towards the margin, orange-yellowish (oac 757, oac 792, oac 791, oac 813), margin straight to arched especially in the younger, entire to somewhat sulcate. *Lamellae* cream to yellowish-cream (oac 857), adnate-decurrent to decurrent, distant, large broad, intermixed with lamellulae, margin entire, very brittle. Spore print not observed. *Stipe* 20-46 x 8-15 mm, light orange to cream, frequently darker on the base and lighter in apex or entire in the same color (oac813, oac857, oac855), central, equal to tapering downwards, finely pruinose and longitudinally striate, context whitish, unchanging when injured, spongy and very brittle, basal mycelium white and cotton-like. *Latex* absent or not observed. Odor almond, taste bitter and acrid on tip of the tongue. *Basidiomata* in group of 30 or more, in litter soil.

Basidiospores (6)6.5-7.5 x (11)10-8 μm , $Q = 1.33$ ellipsoid, ornamentation amyloid, up to 0.5 μm high, composed of irregular rounded warts, with thin connecting lines, partial or complete reticulum, suprahilar plage inamyloid, hilar appendix 1.5-2 μm . *Basidia* 35-50 x 6-10 μm , clavate, four sterigmata up to 3 μm long. *Pseudocystidia* abundant, up to 70 μm , cylindric to narrowly clavate, rounded to capitulate or obtuse apex, not passing the hymenium line and not going through the central hymenophoral trama, with refractive contents, staining brown in sulphobenzaldehyde, cheilocystidia absent, the apex of lamellae fertile. *Hymenophoral trama* near the edge of lamellae with massed numerous irregular and small sized spherocysts intermixed with flattened hyphae, larger half of the trama with large and cylindric to irregular spherocysts forming an almost pseudoparenchymous, few laticiferous hyphae, gloeopleura system not observed, not staining in sulphobenzaldehyde. *Pileipellis* a suprapellis of dermatocystidia, thin-walled, cylindrical to filiforme, clavate, aculeate to tibiiform, in clusters, extensions of the cells of the subpellis. Subpellis of large spherocysts, rounded and irregular. *Caulipellis* of medium rounded spherocysts, clavate to napiform and pyriform caulocystidia, on the basis of stipe caulocystidia capitate with hair-like apex extensions, up to 70 μm .

Material examined: BRAZIL. SANTA CATARINA: Florianópolis, Pântano do Sul, Lagoinha do Leste Trail, 04 January 2012, Jaeger MJ112 (Holotype FLOR).

Additional materials examined: BRAZIL. AMAZONAS: Estrada Manaus-Caracarai km 125, 20 July 1978, Singer B11315 (INPA, Holotype of *Lactarius amazonensis*).

Notes: *Lactarius amazonensis* resembles *Lf. copiosus*, however *L. amazonensis* has subglobose to ellipsoid spores, fusoid macrocystidia with sharpened apex, and pileipellis with erected dermatocystidia organized as a hymenium. The spherocysts in the subpellis are bigger in *Lf. copiosus* than in *L. amazonensis*. *Lactifluus copiosus* is macroscopically similar to *Lf. concentricus*, but microscopically *Lf. concentricus* has more dermatocystidia and organized like subhymeniform in the suprapellis, and smaller basidiospores.

Lactifluus copiosus can also be compared macroscopically to *Lactarius hygrophoroides* Berk & M.A.Curtis, a species from the east coast of the US that is associated to *Quercus*, but the latter has a trichodermial pileipellis (Pegler, 1983), differing from the pileipellis with dermatocystidia of *Lf. copiosus*. Rick collected what he called *L. distans* in Rio Grande do Sul. The label is marked *L. distans* var. *arenosa*, but this name was never published by Rick. Singer (1953, 1983) says that *L. distans* sensu Rick is a synonym of *L. hygrophoroides*, but due to the host, that does not occur naturally in Brazil. This was probably a misdetermination by Rick, an introduced species or, as Rick annotated on the label, a new variety. Unfortunately, Rick's specimen at PACA is in very bad conditions and we could not study it.

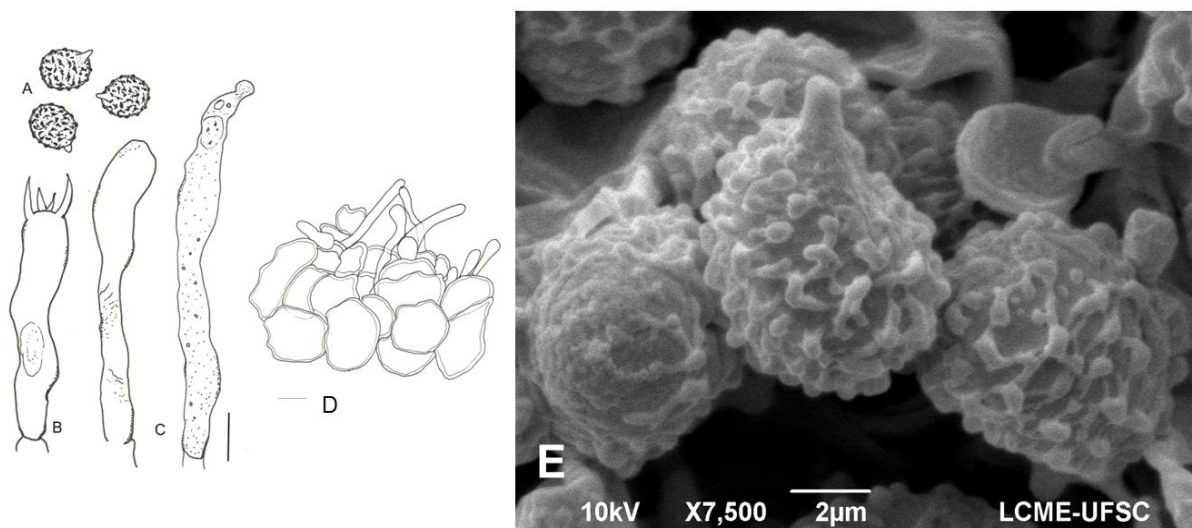


FIG. 4. *Lactifluus copiosus*. A. Basidiospores. B. Basidium. C. Pseudocystidia. D. Pileipellis. E. SEM of basidiospores. (A-D: Scale bar = 10 µm)

5. *Lactifluus dimorphosporus* Jaeger & M.A. Neves sp. nov.

FIGS. 5, 10-E.

Mycobank: XXX

Etymology: dimorphus (two forms) + sporus (spores), due to the presence of basidiospores of two different sizes.

Type: Brazil, Santa Catarina, Santo Amaro da Imperatriz, trilha do Plaza Caldas da Imperatriz Resort, 13 March 2012, Jaeger MJ139 (Holotype FLOR).

Pileus light brown-reddish to cream, cracks towards to the margin that exposed the whitish context, margin incurved and split in mature with fragments of remains of veil, surface velutinous, lamella cream, stipe cream to pale pinkish color, latex scanty and watery, basidiospores of two different sizes, the more abundant ones (7.5)-8 x 6.5-7(7.5) µm, broadly ellipsoid, the other ones 9-11(12) x 7.5-9(10), more subglobose, macrocystidia uncommon, lamprosporangia suprapellis of setiform terminal elements intermixed with subclavate dermatocystidia, subpellis of thick-walled cells.

Pileus up to 60 mm wide, convex to plane with depressed center in the youngers and infundibuliform when mature, light brown-reddish (oac660) to cream (oac676), center normally darker and cracked towards to the margin that exposes the whitish context, mainly when mature, margin incurved and split in mature with fragments of remains of veil, surface velutinous. *Lamellae* cream (oac816), subdecurrent, medium broad, close, intermixed with lamellulae of different lengths irregularly placed, margin entire. Spore print not observed. *Stipe* up to 37 mm long, 6-11 mm thick, cream to pale pinkish color (oac676), central, tapering downwards, pruinose to velutinous, annulus apical, attached just below lamellae insertion, membranous and concolorous with the stipe surface, context white and spongy, basal mycelium white and with yellowish and thick rhizomorphs. *Latex* scanty and watery. Odor and taste not observed. *Basidiomata* in groups of 5 or more, in litter on the soil.

Basidiospores of two different sizes. The most abundant spores (7.5)-8 x 6.5-7(7.5) μm , $Q = 1.20$, broadly ellipsoid, amyloid verrucose ornamentation, 0.4-0.7 μm high, composed of irregular rounded to elongated, often aligned warts, with connecting lines forming a complete reticulum, suprahilar plage smooth, hilar appendix up to 2 μm ; the second category of spores is less abundant and more subglobose, 9-11(12) x 7.5-9(10), $Q = 1.15$, with the same configuration of ornamentation but with smaller projections, 0.3-0.5 μm . *Basidia* 35-50 x 6-8 μm , subclavate, with four sterigmata. *Macrocystidia* uncommon, up to 80 μm , ventricose to fusiform, capitulate and rounded apex, negative in sulphobenzaldehyde, gloeopleura system in the center of trama consisting of laticiferous hyphae up to 10 μm range. Cheilocystidia cylindrical or subclavate, thin-walled. *Hymenophoral trama* with numerous small to medium sized spherocysts, irregular, very compressed, intermixed with laticiferous hyphae in the central of trama, gloeopleura system not ramified, light brown staining in sulphobenzaldehyde. *Pileipellis* consisting of two layers, a lampropalisade suprapellis of setiform terminal elements, up to 90 μm long, subcylindrical to subfusiform, sometimes forked, with tapering apices, acuminate or obtuse apex, often septate intermixed with subclavates dermatocystidia. Subpellis composed of rounded to elongated or irregularly shaped, thick-walled cells.

Materials examined: BRAZIL. SANTA CATARINA: Santo Amaro da Imperatriz, trilha do Plaza Caldas da Imperatriz Resort, 13 March 2012, Jaeger MJ139 (Holotype FLOR). PARAÍBA: João Pessoa, Jardim Botânico Benjamin Maranhão, 10 September 2011, Magnago ACM323 (FLOR).

Additional materials examined: BRAZIL. AMAZONAS: Estrada Manaus-Caracaraí km 45, 31 January 1980, Brandley & Singer B12087 (INPA, Holotype of *Lactifluus annulifer*). RIO GRANDE DO SUL: São Leopoldo, Rick (PACA 13762, *Lactarius russula*).

Notes: This species resembles *Lactifluus annulifer* (Singer 1983), but *Lf. annulifer* does not have spores of two sizes, and the suprapellis lacks spherocysts and dermatocystidia. *Lactarius neotropicus* Singer is somewhat similar macroscopically but the lamellae are more crowded and the spores are of just one size. *Lactarius russula* Rick grows in the same subtropical region and is macroscopically similar but does not have spores of different sizes.

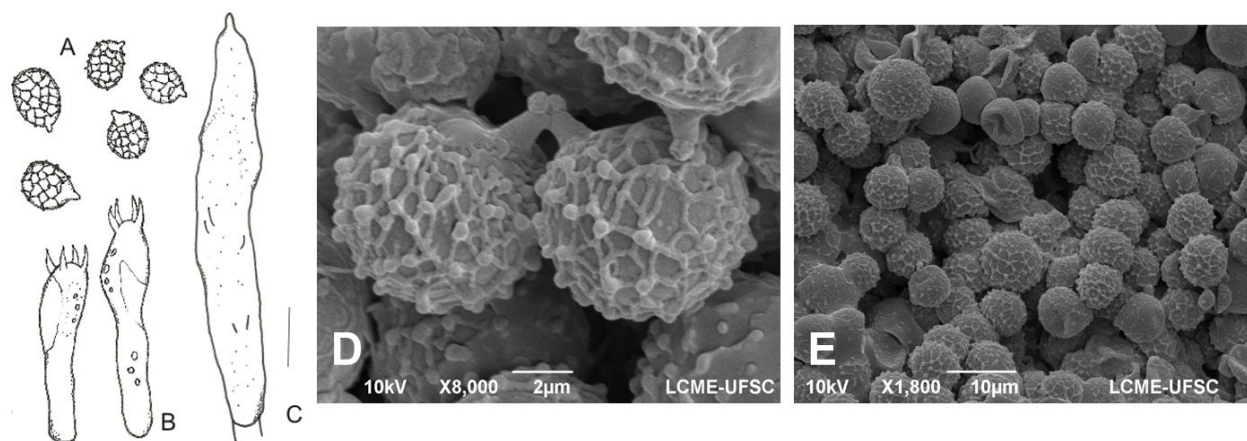


FIG. 5. *Lactifluus dimorphosporus*. A. Basidiospores. B. Basidia. C. Macrocystidium. D. SEM of smaller basidiospores. E. SEM of basidiospores of two different sizes. (A-C: Scale bar = 10 µm)

6. *Lactifluus dunensis* Sá & Wartchow (Mycosphere 4(2), 261–264, 2013)

FIGS. 6, 10-F.

Pileus up to 65 mm wide, convex to plane in the youngers and depressed to infundibuliform when mature, bright orange to rust color (oac756), surface smooth to minutely rugose, with irregular holes that looks like were eaten. Margin incurved at first and more straight when mature, irregular to slightly sulcate. *Lamellae* concolorous with pileus, adnate to decurrent, large broad, distant, intermixed with lamellulae of different lengths regularly placed, margin entire. Spore print not observed. *Stipe* 35-50 mm long, 8-14 mm thick, bright orange (oac756) to pale orange towards to apex (oac758), central, equal to tapering downwards, longitudinally fibrous, basal mycelium white. *Latex* not observed. Odor and taste not described. *Basidiomata* in groups of 5 or more, in sandy soil.

Basidiospores (7)7.5-8(9) x 6-7 µm, Q = 1.26, broadly ellipsoid, ornamentation amyloid, up to 0.5 µm high, composed of irregular rounded to elongated, often aligned warts, with thin connecting lines, not forming a reticulum, suprahilar plage inamyloid, hilar appendix up to 1.5 µm. *Basidia* elongate, cylindrical to subclavate. *Pseudocystidia* abundant, cylindrical, subclavate, tibiiform or strangulated, rounded apex, some with refractive contents, negative in sulphobenzaldehyde. *Hymenophoral trama* of irregular do twisted hyphae, inflated in some parts, intermixed with dispersed oleiferous hyphae of 6 µm of diameter, negative in sulphobenzaldehyde. *Pileipellis* consting of a suprapellis of dermatocystidia, cylindrical, filiform or subclavates. Mediopellis of numerous rounded to irregular spherocysts and subpellis slightly gelatinized with repent cylindrical hyphae.

Material examined: BRAZIL. RIO GRANDE DO NORTE: Natal, Parque das Dunas, 24 April 2008, *Neves* 219 (FLOR).

Notes: *Lactifluus dunensis* is a very conspicuous species that forms large amounts of basidiomata at the dunes and its striking orange color. It was described recently (Sá et al. 2013) for

the same area, in dunes of Rio Grande do Norte. *Lactifluus dunensis* is characterized for abundant pseudocystidia and basidiospores broadly ellipsoid. Differs from European species like *Lf. volemus* especially in the pileipellis, that has dermatocystidia in *Lf. dunensis* and is lampropalisade in *Lf. volemus*.

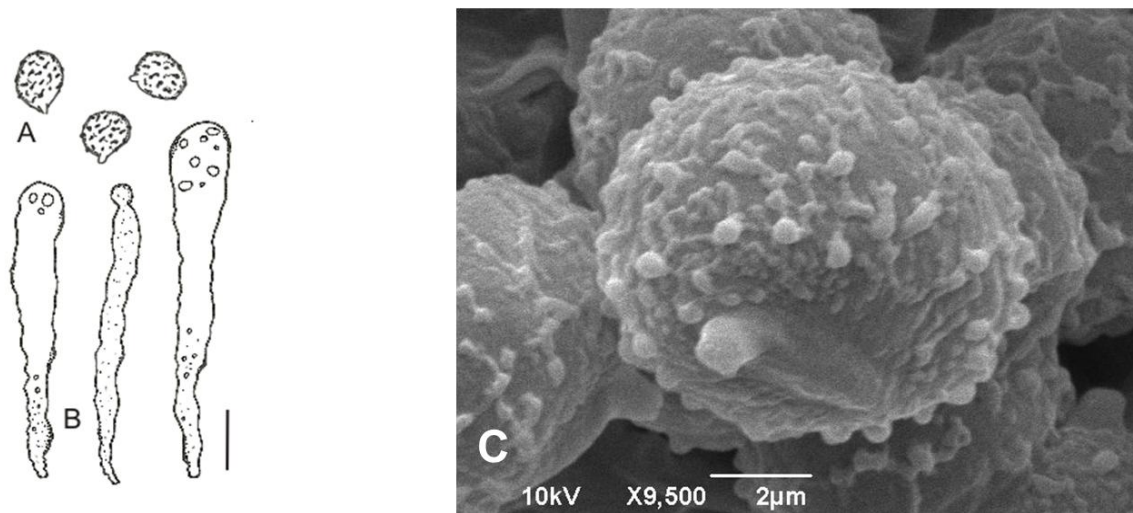


FIG. 6. *Lactifluus dunensis*. A. Basidiospores. B. Pseudocystidia. C. SEM of basidiospores. (A-C: Scale bar = 10 μm)

7. *Lactifluus hygrophanus* Jaeger & M.A. Neves sp. nov.

FIGS. 7, 10-G.

Mycobank: XXX

Etymology: hygrophanus (translucent when wet, opaque when dry), due to the margin of the pileus that is translucent when wet and opaque when dry.

Type: Brazil, Santa Catarina, Florianópolis, Lagoa da Conceição, Trilha do Morro da Lagoa, 10 March 2011, *Jaeger* MJ24 (Holotype FLOR).

On litter soil, pileus pale orange to tan color, lamella cream, subdecurrent, subdistant to close, intermixed with lamellulae, basidiospores 7-9(10) x (5)6-7 μm , broadly ellipsoid to ellipsoid, ornamentation irregular rounded, with thin connecting lines, hymenophoral trama of irregular to twisted hyphae and irregular spherocysts, intermixed with dispersed laticifers hyphae, suprapellis slightly gelatinized with rounded spherocyst from where projecting dermatocystidia, mediopellis of rounded spherocysts and subpellis gelatinized with repent cylindrical hyphae.

Pileus up to 80 mm wide, convex in the youngers and depressed to infundibuliform when mature, pale orange to tan color (oac764 to 766), surface smooth to slightly rugolose to fibrillose and lightly pruinose, hygrophanous in the margin. Margin incurved at first and straight to uplifted when mature, entire to irregular or slightly sulcate. *Lamellae* cream color (oac815), subdecurrent to decurrent, small broad, subdistant to close, intermixed with lamellulae of different lengths regularly placed, margin entire. *Stipe* 15-49 mm long, 5-17 mm thick, pale orange

(oac765) to cream-orange, central, equal to tapering downwards, longitudinally fibrous. *Latex* not observed. Odor and taste not described. *Basidiomata* solitary or in groups of 5 or more, in litter soil.

Basidiospores 7-9(10) x (5)6-7 μm , $Q = 1.30$, broadly ellipsoid to ellipsoid, ornamentation amyloid, up to 0.9 μm high, composed of irregular rounded, with thin connecting lines, not forming a complete reticulum, suprahilar plage inamyloid, hilar appendix up to 2 μm . *Basidia* elongate, subclavate to clavate, up to 50 μm . *Pseudocystidia* cylindrical, subclavate or tibiiform, with rounded apex, not projecting beyond the hymenial line, some with refractive contents, light brown in sulphobenzaldehyde. *Hymenophoral trama* of irregular to twisted hyphae and irregular spherocysts, intermixed with dispersed laticifers hyphae, light brown in sulphobenzaldehyde. *Pileipellis* consisting of three layers, a suprapellis slightly gelatinized with rounded spherocyst from where projecting dermatocystidia of different shapes, cylindrical, strangulate or lecythiform. Mediopellis of numerous rounded spherocysts and subpellis gelatinized with repent cylindrical hyphae that appear yellowish in KOH.

Material examined: BRAZIL. SANTA CATARINA: Florianópolis, Lagoa da Conceição, Trilha do Morro da Lagoa, 10 March 2011, *Jaeger* MJ24 (Holotype FLOR), MJ22, MJ23, MJ25, MJ26, MJ28, MJ29; 16 March 2011, *Jaeger* MJ50, MJ51; 11 May 2012, *Magnago* ACM333, ACM 334; 21 April 2011, *Neves* 754; Corupá, RPPN Emílio Fiorentino Battistella, Rota das Cachoeiras, 03 March 2011, *Neves* 696 (FLOR).

Notes: *Lactifluus hygrophanus* is macroscopically similar to *Lactifluus mineirensis*, but the latter has bigger pseudocystidia up to 110 μm and in *Lf. hygrophanus* they do not project beyond the hymenial line. *Lactifluus mineirensis* also has the margin of the pileus irregular with fragments while in *Lf. hygrophanus* the margin is entire to irregular, but without fragments.

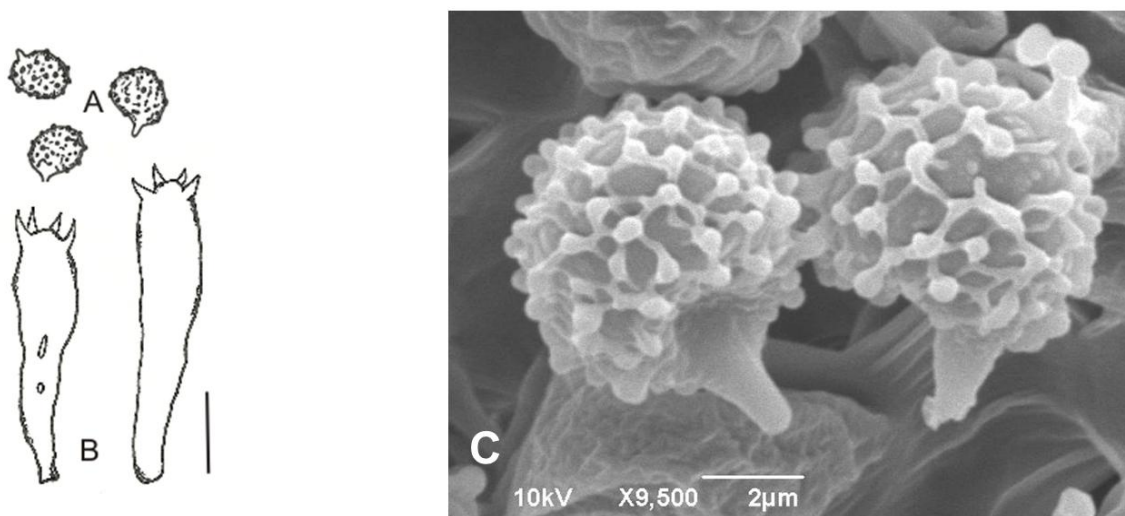


FIG. 7. *Lactifluus hygrophanus*. A. Basidiospores. B. Basidia. C. SEM of basidiospores. (A-C: Scale bar = 10 μm)

8. *Lactifluus mineirensis* Jaeger & M.A. Neves sp. nov.

FIGS. 8, 10-H.

Mycobank: XXX

Etimology: Due to the type locality, in Minas Gerais state.

Type: Brazil, Minas Gerais, Belo Horizonte, Parque Municipal das Mangabeiras, Trilha do Tatu, 16 April 2011, Leal-Dutra CALD 27 (Holotype FLOR).

On soil, pileus orange to tan color, lamellae pale orange, subdistant to close, basidiospores 7-8(9) x (5)6-7 μm , broadly ellipsoid, ornamentation irregular rounded to elongated, often aligned warts, with thin connecting lines, forming a reticulum, pseudocystidia mucronate, suprapellis slightly gelatinized with dermatocystidia, mediopellis of rounded spherocysts and subpellis gelatinized with repent cylindrical hyphae.

Pileus up to 90 mm wide, convex in the youngers and depressed in the center to infundibuliform when mature, pale orange to tan color (oac764 to 766) with some parts brownish (oac667), surface slightly rugulose in the central portion and pruinose, sulcate starting in the middle to the edge. Margin incurved at first and straight to uplifted when mature, irregular with fragments. *Lamellae* cream to pale orange (oac815 to oac969), subdecurrent to decurrent, small broad, subdistant to close, intermixed with lamellulae of different lengths regularly placed, margin entire. Spore print not observed. *Stipe* 15-49 mm long, 5-17 mm thick, concolour with lamellae, central, equal to tapering downwards, longitudinally fibrous. *Latex* not observed. Odor and taste not described. *Basidiomata* solitary or in groups of 5 or more, in soil, in Atlantic Forest.

Basidiospores 7-8(9) x (5)6-7 μm , $Q = 1.17$, broadly ellipsoid, ornamentation amyloid, up to 0.7 μm high, composed of irregular rounded to elongated, often aligned warts, with thin connecting lines, forming a reticulum, suprahilar plage inamyloid, hilar appendix up to 2.5 μm . *Basidiasubclavate* to clavate, up to 50 μm . *Pseudocystidia* mucronate, with rounded apex, up to 110 μm long, some with needle-like contents, light brown in sulphobenzaldehyde. *Hymenophoral trama* of irregular to twisted hyphae and irregular spherocysts, intermixed with dispersed laticifers hyphae, light brown in sulphobenzaldehyde. *Pileipellis* consisting of three layers, a suprapellis slightly gelatinized with rounded spherocyst from where numerous projecting dermatocystidia of different shapes (cylindrical, strangulate or lecythiform) arise. Mediopellis of numerous rounded spherocysts and subpellis gelatinized with repent cylindrical hyphae that appear yellowish in KOH.

Material examined: BRAZIL. MINAS GERAIS: Belo Horizonte, Parque Municipal das Mangabeiras, Trilha do Tatu, 16 April 2011, Leal-Dutra CALD 27 (Holotype FLOR).

Notes: This taxon is macroscopically similar to *Lactifluus hygrophanus*, but it is darker in the center of the pileus. Microscopically it has pseudocystidia that project up to 110 μm from the hymenial line, what is not seen in *Lf. hygrophanus*. See also comments under *Lf. hygrophanus*.

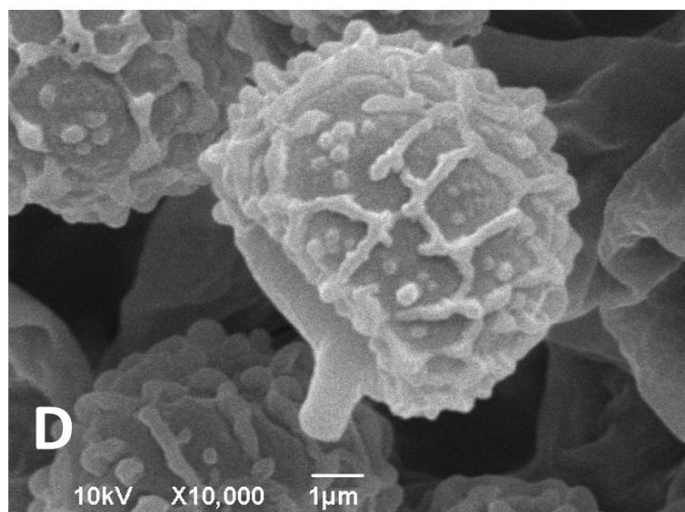
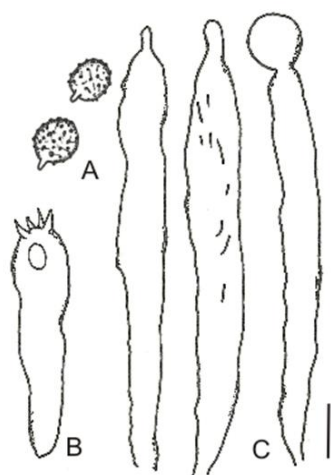


FIG. 8. *Lactifluus mineirensis*. A. Basidiospores. B. Basidium. C. Pseudocystidia. D. SEM of basidiospores. (A-C: Scale bar = 10 µm)

9. *Lactifluus panuoides* (Singer) Jaeger & M.A. Neves comb. nov.

FIGS. 9, 10-I.

≡ *Lactarius panuoides* Singer; Kew Bull. 7: 300. 1952.

≡ *Pleurogala panuoides* (Singer) Redhead and Norvell; Mycotaxon 48:377. 1993.

Mycobank: XXX

Pleurotoid pileus 0.3-2.0 cm diam., convex to applanate, spatulate to tongue-shaped, white to light cinnamon (oac780), surface subtomentose in young and more tomentose in mature specimens, margin scrobiculate. Lamellae decurrent, concolorous with the pileus, subdistant, forked with lamellulae regularly intercalated. Context thin, heteromerous, with sphaerocytes intermixed with thin-walled hyphae. Minute stipe, central to lateral, concolorous with the pileus or more whitish, very tomentose. In the base, white mycelium tomentose. Latex copious, white, aqueous, staining cinnamon. Ectomycorrhizae interaction not observed. Solitary to gregarious, scattered among bryophyte mats on soil, in old-growth forest in Rio de Janeiro, Brazil. Also known from Trinidad, Guadeloupe and Guyana.

Basidiospores 7.5-9 X 7-8 µm (Q = 1.11), subglobose, heterotropic to orthotropic in some, hyaline, with an amyloid ornamentation, 0.3-0.6 µm high, of numerous crowded verrucae joined by thick connectives forming an almost complete reticulum or subreticulate; suprahilar plage present with a thickened, amyloid central spot; hilar appendix 1.3-1.8 µm. *Basidia* clavate, four sterigmata (up to 7 µm long). *Pseudocystidia* frequent, 5-8 µm wide, cylindrical to sinuous, rounded at the apex, frequently at or below the level of the hymenium, very rarely emergent, with granular amorphous contents, connected to the laticiferous system, negative in sulphobenzaldehyde. Lamellae edge with cheilocystidia. *Hymenophoral trama* intermixed with thin-walled hyphae and yellow laticiferous hyphae, but lacking sphaerocytes. *Pileipellis* a disrupted, stratified epithelial

layer of hyaline, subglobose to clavate, thin-walled elements, 15-35 μm wide, giving rise to abundant, erect hairs, 30-200 X 2-6 μm , with thickened walled, cylindrical to irregular. *Stipitipellis* a layer with discontinuous mounds of subglobose or clavate, thick-walled elements, given rise to erect hairs 200-400 X 5-10 μm , thick-walled, straight or irregular, often septate. *Subiculum* composed of thick-walled hyphae, septate.

Material examined: BRAZIL. RIO DE JANEIRO: Rio de Janeiro, PARNA da Tijuca, Floresta da Tijuca, trail near the visitors center, 03 November 2011, MAN 931 (RB).

Additional materials examined: AMAZONAS: Manaus, Igarapé do Tarumãzinho, 16 Apr 1980, Singer B12099 (INPA, Holotype of *Lactarius igapoensis*).

Notes: Singer (1952) described the first known pleurotoid species in the Russulaceae, *Lactarius panuoides*, from Trinidad. More than 30 years later, the same author (Singer, 1984) published two additional pleurotoid *Lactarius* from Brazil, *L. igapoensis* and *L. campinensis*. *Lactarius panuoides* was also reported from Guadeloupe by Pegler (1983). Henkel et al. (2000) registered *Lactarius panuoides* and *Lactarius campinensis* from Guyana. In the same paper, they transferred *Lactarius campinensis* to *Russula*, based on molecular data. The lateral stipitate habit, the felty mycelial base, the thick-walled surface hairs, the white watery latex are diagnostic characters of *Lactifluus panuoides*.

Previous phylogenetic analysis indicated an affinity of *Lactarius panuoides* to the *Lactifluus* clade (Jaeger & Neves, unpublished; Stubbe et al. 2012). Van de Putte (2012) reported that pleurotoid species have been recorded only in *Lactifluus*, but that author did not do the molecular study of *Lactarius panuoides*, therefore the combination was not made. Here we propose the new combination of *L. panuoides* in *Lactifluus*.

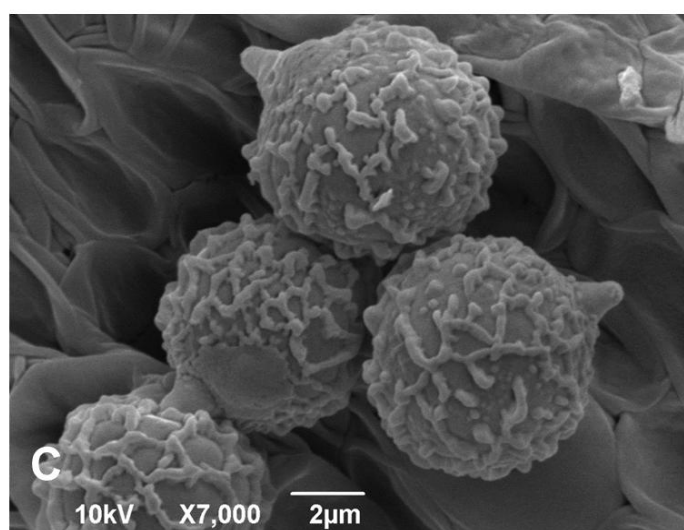
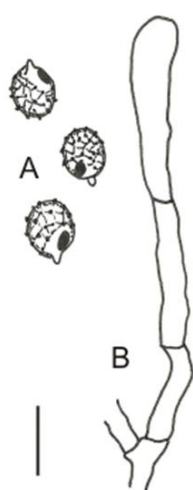


FIG. 9. *Lactifluus panuoides*. A. Basidiospores. B. Queilocystidia. D. SEM of basidiospores.

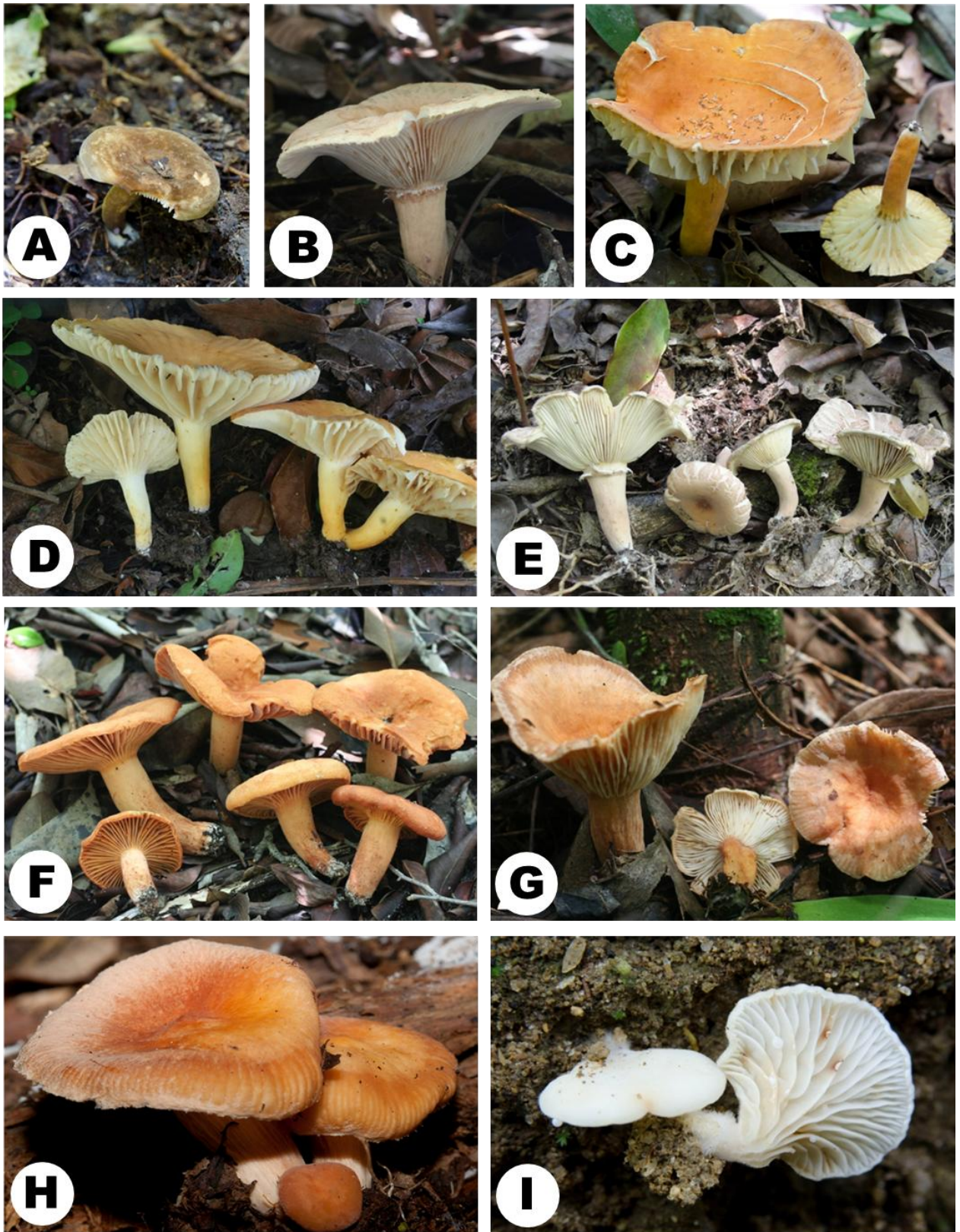


FIG. 10. Basidiomata A – I. A. *Lactifluus byssinus*. B. *Lf. caseo-odoratus*. C. *Lf. concentricus*. D. *Lf. copiosus*. E. *Lf. dimorphosporus*. F. *Lf. dunensis*. G. *Lf. hygrophanus*. H. *Lf. mineirensis*. I. *Lf. panuoides*. (Photos A, C, I courtesy B. Dentinger; B, D, F, G courtesy M. A. Neves; E courtesy L. Trierveiler-Pereira; H: C. Veloso).

DISCUSSION

The uneven distribution of biodiversity and threats, as well as limited funding, urged the necessity of prioritizing areas for protection. The selection Global Biodiversity Hotspots is a testament to this effort. Although Amazon and Atlantic Forest of Brazil belong to the Global Biodiversity Hotspot, our knowledge about the ectomycorrhizal Russulaceae from these areas is restricted to only a few records from Singer et al. (1983 and 1986), Singer (1984) and Rick (1961). Increasing habitat fragmentation poses a significant threat to ectomycorrhizal fungi, and efforts to document their diversity, in order to conserve it, need to be prioritized.

Nine species of *Lactifluus* are reported from Brazil, confirming the presence of this group of ectomycorrhizal fungi in the Brazilian tropical and subtropical ecosystems. This supports the findings of other mycologists, such as Singer et al. (1983, 1986), Singer (1984) and Rick (1961), who have collected ectomycorrhizal fungi in Brazil.

Seven species are described as new to science and one is the first record to Brazil. This confirms some estimatives that the diversity in the tropics and subtropics are higher than we expect (Hawksworth 1995; Blackwell 2011).

These new taxa illustrate once more how imperative it is to intensify the inventory of tropical Russulaceae and to study them in the field to recover the missing mycological links that are threatened with imminent extinction in the tropics and other areas that were not inventoried yet.

The nine taxa here studied exhibit microscopical characters that agree with the concept of *Lactifluus* as described by Van de Putte (2012). The absence of latex-exudation is not an uncommon phenomenon in tropical *Lactifluus*, even when lactifer hyphae are abundantly present in the context. The lack of latex exudate was observed in five species of Brazilian *Lactifluus* and had been reported by Buyck et al. (2008) from African Russulaceae.

Van de Putte (2012) says that the most striking difference between *Lactarius* and *Lactifluus* is their geographical distribution. The presence of this high number of new species of *Lactifluus* recorded from Brazil confirms the study of Van de Putte (2012).

ACKNOWLEDGMENTS

M. Jaeger thanks Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES, Brazil) for financial support during her master thesis; the New York Botanical Garden for the fellowship, and the Farlow Herbarium for a Friends of the Farlow fellowship. To “Laboratório Central de Microscopia Eletrônica” at UFSC for the SEM images. We are indebted to the curators of NY, FW, K, PACA, INPA and RB who made collections available for this study. We also thank to Altielys

Magnago, Larissa Trierweiler-Pereira and Caio Leal-Dutra for providing specimens. Altielys Magnago helped with figures. Nathan Smith made helpful suggestions on the manuscript.

LITERATURE CITED

- Blackwell M. (2011). The fungi: 1, 2, 3...5.1 million species? *American Journal of Botany* 98(3): 426-438.
- Buyck, B., V. Hofstetter, et al. (2008). Walking the thin line between *Russula* and *Lactarius*: the dilemma of *Russula* subsect. *Ochricompactae*. *Fungal Diversity* 28(15-40).
- Grandi, R. A. P., Guzmán, G. & Bononi, V.L. (1984). Adições às Agaricales (Basidiomycetes) do Parque Estadual das Fontes do Ipiranga, São Paulo, SP, Brasil. *Rickia* 11: 27-33.
- Hawksworth, D. L., P. M. Kirk, et al. (1995). *Ainsworth and Bisby's dictionary of fungi*. Cambridge, CAB International University Press.
- Henkel. T. W., M. C. Aime et al. (2000). Systematics of pleurotoid Russulaceae from Guyana and Japan, with notes on their ectomycorrhizal status. *Mycologia* 92(6): 1119-1132.
- Kramer, L.A. 2004. *The Online Auction Color Chart*. ed. Online Auction Color Chart, Company, Stanford. 12 pp.
- Largent, D. L. (1986). *How to Identify Mushrooms to Genus I: Macroscopic features*. Eureka, Mad River Press Inc.
- Largent, D. L., D. Johnson, et al. (1977). *How to Identify Mushrooms to Genus III: Microscopic features*. Eureka, Mad River Press Inc.
- Pegler, D. N. (1983). *Agaric Flora of the Lesser Antilles*. Kew Bull Add ser 9. London: Her Majesty's Stationary Office. 668 p, pl. col. 596-635.
- Rick, J. (1961). Basidiomycetes Eubasidii in Rio Grande do Sul, Brasília. *Iheringia* 8: 363-365.
- Sá, M. C. A., Baseia I. G., et al. (2013). *Lactifluus dunensis*, a new species from Rio Grande do Norte, Brazil. *Mycosphere* 4(2), 261–264, Doi 10.5943/mycosphere/4/2/9
- Singer, R. (1952). Russulaceae of Trinidad and Venezuela. *Kew Bull* 7: 295-301.
- Singer, R. (1953). The studies of basidiomycetes VI. *Lilloa* 27: 83-85.
- Singer, R. (1984). Tropical Russulaceae II. *Lactarius* section *Panuoidei*. *Nova Hedwigia* 40: 435-452.
- Singer, R., I. Araujo, et al. (1983). *Ectotrophically Mycorrhizal Fungi of the Neotropical Lowlands, Especially Central Amazonia*, Lubrecht & Cramer Ltd.

- Singer, R. and I. Araujo (1986). Litter decomposing and ectomycorrhizal *Basidiomycetes* in an Igapó forest. *Plant Systematics and Evolution* 153: 107-117.
- Stubbe D., H. T. Le et al. (2012). The Australasian species of *Lactarius* subgenus *Gerardii* (Russulales). *Fungal Diversity* 52: 141-167.
- Stubbe D., X-H. Wang et al. (2012b). New combinations in *Lactifluus*. 2. *L.* subg. *Gerardii*. *Mycotaxon* 119: 483-485.
- Thiers, B. (periodically updated). Index Herbariorum: A global directory of public herbaria and associated staff. New York Botanical Garden's Virtual Herbarium. <http://sweetgum.nybg.org/ih/> accessed in 10 September 2012.
- Van de Putte, K. (2012). Hidden diversity exposed: a case study of *Lactifluus volemus* sensu lato. PhD dissertation. Ghent University.
- Verbeken, A., K. J. Nuytinck and B. Buyck (2011). New combinations in *Lactifluus* 1. *L.* subgenera *Edules*, *Lactariopsis* and *Russulopsis*. *Mycotaxon* 118: 447-453.
- Verbeken, A., K. Van de Putte et al. (2012). New combinations in *Lactifluus*. 3. *L.* subgenera *Lactifluus* and *Piperati*. *Mycotaxon* 120: 443-450.
- Wartchow, F. and M. A. Q. Cavalcanti (2010). *Lactarius rupestris*—a new species from the Brazilian semi-arid region. *Mycotaxon* 112: 55–63.

5. CAPÍTULO IV

5.1. FILOGENIA MOLECULAR DE RUSSULACEAE: UM ESTUDO PRELIMINAR

Russulales é a ordem morfológicamente mais diversa de Agaricomycetidae, contendo uma grande variedade de formas de basidiomas, desde ressupinado, discoide, efuso-reflexo, clavarioide, pileado a gasteroide; e himenóforo com configuração lisa, poroide, hidnoide, lamelada ou labirintoide. Funcionalmente esses fungos são principalmente saprotróficos, mas outros são ectomicorrízicos, parasitas de raízes e simbiontes de insetos. Alguns caracteres têm sido reconhecidos como sinapomorfias de Russulales, incluindo a morfologia do esporóforo, o sistema gloeopleuro e a amiloidia dos esporos (Miller et al 2006).

O monofiletismo de Russulales foi confirmado através de análises moleculares ao longo das últimas décadas (Hibbett and Donoghue 1995, Hibbett et al. 1997, Bruns et al. 1998, Hibbett and Binder 2002, Larsson and Larsson 2003, Larsson et al. 2004, Binder et al. 2005, Miller et al. 2006, Buyck et al. 2008). Embora Russulales seja relativamente bem estudada por métodos moleculares, ainda restam muitos desafios, uma vez que as sequências de DNA foram obtidas para apenas poucas espécies dentro da ordem.

A filogenia com base multigênica de Russulaceae mostrou que *Lactarius* e *Russula*, descritos por Person em 1797 e 1796 respectivamente, não são sustentados como dois clados (Buyck et al. 2008). *Russula* aparece como sendo monofilético apenas quando um pequeno grupo de espécies (*R. subseção Ochricompactae*) é removido. Este pequeno grupo de espécies de *Russula*, que inclui também várias espécies previamente posicionadas em *Lactarius*, foi descrito recentemente como um gênero à parte, denominado *Multifurca* Buyck & V. Hofst. (Buyck et al. 2008). Além das espécies que pertencem a *Multifurca*, *Lactarius* divide-se em dois clados, um grande mantido como *Lactarius* sensu novo e um menor (contendo 20% das espécies), que constitui o gênero *Lactifluus* (Verbeken et al. 2011).

Combinada com estudos morfológicos, a filogenia molecular inclui um grande número de táxons e tem permitido aos cientistas fazer inferências evolutivas e comparar os resultados com as classificações sistemáticas mais antigas.

Um esquema de classificação infragenérico sólido pode também ajudar na identificação de caracteres que são mais apropriados e úteis para separar entidades taxonômicas. Criar um sistema confiável de classificação infragenérica em Russulaceae (ou em *Russula* e *Lactifluus*) é um importante primeiro passo para ajudar a estreitar as escolhas taxonômicas durante o processo de identificação.

Neste estudo estamos principalmente interessados em descobertas recentes de táxons tropicais e subtropicais que nunca foram incluídos em estudos filogenéticos. Sequências do espaçador interno transcrito (ITS) do DNA ribossomal foram avaliadas quanto à sua utilidade na determinação da posição filogenética e nas relações entre espécies representantes de táxons infragenéricos descritos para o Brasil.

O objetivo desse estudo foi incluir táxons brasileiros em uma análise filogenética mais ampla para ajudar a elucidar as relações evolutivas dentro de Russulaceae. Além de, estudar molecularmente as novas espécies neotropicais de *Russula* e *Lactifluus* para obter o conhecimento molecular juntamente com a taxonomia clássica, o que auxiliou na identificação de novas espécies e forneceu um padrão de distribuição dos táxons neotropicais dentro de uma filogenia mundial.

5.2. MÉTODOS MOLECULARES

Neste estudo são incluídas 31 sequências de espécies recentemente coletadas no Brasil, sendo 14 de *Lactifluus* (representando 10 espécies) e 17 de *Russula* (representando 6 espécies). Além disso, foram selecionadas do GEnBank 41 sequências que apresentam 85% ou mais de similaridade com as sequências dos materiais brasileiros, e mais 47 sequências do GenBank oriundas do trabalho de Buyck et al. 2008.

O DNA foi extraído de materiais coletados recentemente. No campo, uma pequena porção do material foi preservada em um tubo com sílica-gel ou em cartão FTA para posterior extração de DNA. O DNA destas coleções foi extraído e amplificado segundo métodos de Dentinger et al. 2010. A região ITS do rDNA nuclear foi amplificada com os pares de *primers* ITS8-F e ITS6-R. Foi utilizado um termociclador Eppendorf MasterCycler com os seguintes parâmetros: desnaturação inicial a 95°C por 2 min, cinco ciclos de desnaturação a 94°C por 30 s, anelamento a 55°C por 30 s e extensão a 72°C por 1 min 30 s; seguido por 25 ciclos de desnaturação a 94°C por 30 s, anelamento a 55°C por 30 s e extensão a 72°C por 1 min 30 s; uma extensão final a 72°C por 10 min e o passo final de refrigeração indefinido a 4°C. Após a visualização do resultado positivo do produto de PCR em gel agarose 1%, as amostras de PCR foram limpas antes do sequenciamento com ExoSAP-IT. Foi adicionado 1.25 µL de ExoSAP-IT a pocinho em uma placa de 96-pocinhos e adicionado 3.5 µL de produto de PCR. As soluções foram misturadas e incubadas a 37°C por 15 min, então a 80°C por 15 min no termociclador. Geralmente é utilizado 1 µL do produto limpo da PCR na reação de sequenciamento. As reações de sequenciamento foram realizadas em volumes de 5 µL contendo 1 µL de tampão (ABI), 0.016 µL de *primer* (100 µM), 2.734 µL de água, 0.25 µL de BigDye (ABI) e 1 µL de produto de PCR. Os parâmetros para sequenciamento foram os seguintes: desnaturação inicial a 96°C por 1 min seguido por 25 ciclos de desnaturação a 96°C por 10 s, anelamento a 50°C

por 5 s e extensão a 60°C por 4 min. As reações de sequenciamento foram precipitadas usando etanol como descrito pelo fabricante

(http://www3.appliedbiosystems.com/cms/groups/mcb_support/documents/generaldocuments/cms_040995.pdf) e ressuspendido em 30 µL de água antes de rodar no sequenciador. As sequências foram examinadas e editadas à mão com o programa Sequencher 5.1 (Gene Codes Corp.). Sequências de ITS com 85% ou mais de similaridade com as sequências obtidas dos materiais brasileiros foram selecionadas no GenBank (26 de novembro de 2012) após feito o BLAST das sequências dos materiais brasileiros. O ponto de corte de 85% foi selecionado porque este permite variação suficiente para cobrir *Russula* e ainda assim permitir um alinhamento relativamente satisfatório. A qualidade de todas as sequências foi verificada e as sequências pobres (muitos Ns, por exemplo) ou muito curtas para o alinhamento foram excluídas das análises.

A matriz de 945 pares de bases (incluindo *gaps*) foi montada com cento e vinte sequências, alinhadas utilizando MacClade 4.05 (Maddison and Maddison, 2000) e Muscle no Seaview (Gouy et al. 2010) e ajustadas manualmente. Foram feitos o teste de máxima verossimilhança (ML) e *bootstrapping* rápido usando o programa Seaview 4, com PhyML e modelo GTRgamma usando opção Bootstrap com 100 réplicas (Gouy et al. 2010). *Bondarzewia montana* foi escolhida como grupo externo de acordo com Buyck et al. (2008).

5.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Figura 1 mostra a árvore resultante da análise de ML incluindo valores de *bootstrap* (BS) nos ramos. Três gêneros apareceram em clados distintos e estão marcados na árvore com linhas mais espessadas (*Multifurca*, *Lactarius* e *Russula*). *Lactifluus* não formou um clado.

O clado A (BS = 100%) agrupa espécies brasileiras de *Lactifluus* com táxons não cultiváveis das Guianas e do Ecuador. Dentro deste clado, *Lactifluus dimorphosporus* e *Lf. caseo-odoratus* formaram o clado B (99%), que incluiu as únicas espécies brasileiras com anel, o que indica que estejam dentro de uma mesma seção.

Dentre as 11 espécies que foram descritas como novas, em 5 delas, *Lactifluus mineirensis*, *Lf. concentricus* (clado C), *Russula dentingerii* (clado E), *R. fuscopurpurea* (clado F) e *R. rhizomorpha* (clado I), o marcador ITS evidenciou a distinção dos táxons. *Lactifluus panuoides* aparece no clado D juntamente com espécies da Austrália e Nova Zelândia, configuração também observada no trabalho de Stubbe (2012) em análises como gene que codifica para subunidade maior do ribossomo (LSU).

O clado que inclui as espécies de *Russula* formou um grupo (clado G, 96%) que incluiu a espécie neotropical *R. puiggarii* e espécimens africanas, nenhuma delas identificada ao nível de espécie. Esse é um dado interessante, pois a proximidade de táxons que ocorrem no Brasil a táxons

africanos pode ser explicado pela derivação dos continentes, indicando que esses grupos podem ter uma ancestralidade antiga. A proximidade com outros táxons da América Latina indica uma distribuição continental, talvez oriunda da distribuição dos hospedeiros ao longo da costa das Américas Central e do Sul.

No clado G houve a formação de outro clado com alto suporte (clado H, 100%) incluindo todos os espécimes identificados como *Russula puiggarii* do Brasil e um espécime do Equador, além de várias sequências de fungos não cultiváveis do Equador e das Guianas. Essas sequências são resultantes de amostras ecológicas de solo que não têm basidiomas associados e por isso não foram identificadas. Pela posição no clado, é provável que estas amostras tratem-se de *R. puiggarii*.

Uma vez que trabalhamos somente com o marcador ITS, não tivemos um bom suporte nos ramos que distinguem os gêneros na árvore. É preciso fazer uma análise combinada com outros genes para conseguirmos uma filogenia mais ampla e bem sustentada. A identidade dos hospedeiros vegetais desse grupo de fungos nas regiões tropicais ainda é tema para estudos futuros e não há conhecimento de análises das raízes micorrizadas. Algumas famílias e gêneros de fanerógamas são conhecidos como sendo possíveis hospedeiros, tais como Sapotaceae, Leguminosae, Leguminosae subf. Caesalpiniaceae e Polygonaceae, mas não há estudos comprobatórios destas relações simbióticas para espécies brasileiras.

Estes resultados indicam algumas conclusões que podem ser tiradas no que se refere às relações filogenéticas dos táxons brasileiros e latinoamericanos com relação aos táxons europeus e africanos, mais estudados (Buyck et al. 2008). No entanto para que estudos mais conclusivos sejam feitos é necessária a inclusão de mais genes que permitam a obtenção de melhor suporte nos ramos mais profundos da árvore gerada.

Dentre os resultados que merecem mais atenção incluem-se a proximidade dos dados dos espécimes brasileiros e latinoamericanos com dados de materiais africanos. Além disso, o sequenciamento de material genético não identificado obtido de amostras ecológicas ou a partir de raízes micorrizadas serve como ponto de partida para inferir a presença de certos táxons em outras regiões geográficas. No caso das amostras de raízes a confirmação da associação simbiótica com plantas nativas da América Latina também é um dado de grande importância.

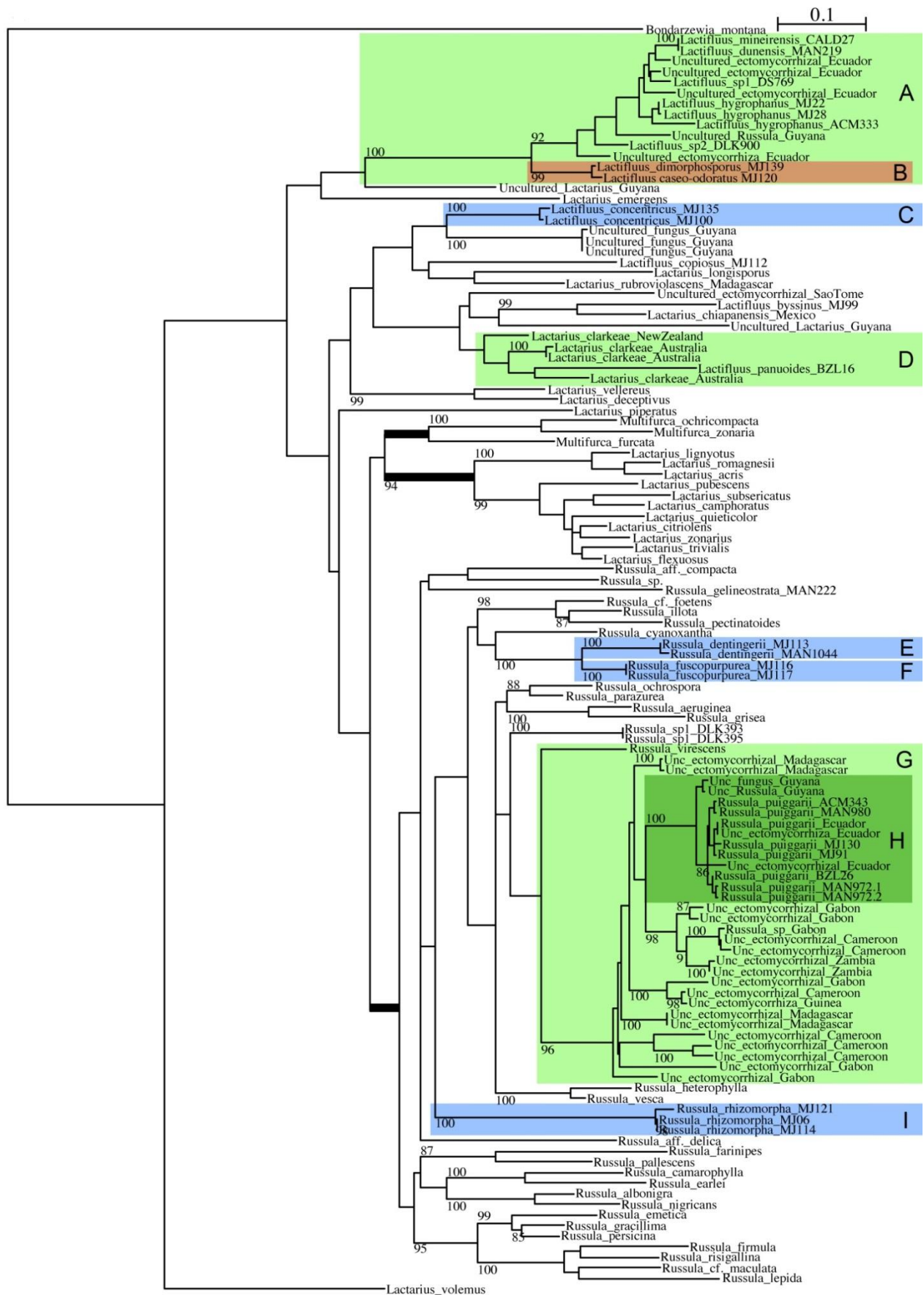


Figura 1. Relação filogenética de Russulaceae inferida por seqüências do marcador ITS usando máximo verossimilhança. Valores de BS (>85%) são mostrados nos ramos. As linhas mais espessas marcam os ramos que separam *Russula*, *Lactarius* e *Multifurca*. As letras à direita correspondem aos grupos mencionados no texto. Os grupos em verde representam táxons com relações geográficas. Grupos em azul marcam espécies novas descritas neste trabalho. O grupo em vermelho marca as duas espécies de *Lactifluus* que apresentam anel. *Bondarzewia montana* foi usada como grupo externo.

5.4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Buyck, B., et al. **Walking the thin line between *Russula* and *Lactarius*: the dilemma of *Russula* subsect. *Ochricompactae*.** Fungal Diversity 28:15-40, 2008.

Dentinger, B. T. M., et al. **Rapid and reliable high-throughput methods of DNA extraction for use in barcoding and molecular systematics of mushrooms.** Molecular Ecology Resources, 10: 628-633, 2010

Gouy, M., Guindon, S., Gascuel, O. **SeaView version 4: a multiplatform graphical user interface for sequence alignment and phylogenetic tree building.** Molecular Biology and Evolution 27(2): 221-224, 2010.

Maddison, D. R. and W. P. Maddison, 2000. MacClade 4: **Analysis of phylogeny and character evolution.** Version 4.0. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts. <http://macclade.org>

Sequencher® version 5.1 sequence analysis software, Gene Codes Corporation, Ann Arbor, MI USA. <http://www.genecodes.com>

Stubbe D., et al. **The Australasian species of *Lactarius* subgenus *Gerardii* (Russulales).** Fungal Diversity 52: 141-167, 2012.

Verbeken, A.; Nuytinck K. J.; Buyck B. **New combinations in *Lactifluus* 1. *L.* subgenera *Edules*, *Lactariopsis* and *Russulopsis*.** Mycotaxon 118: 447-453, 2011.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados deste trabalho geraram informações novas sobre a diversidade e distribuição de espécies de Russulaceae, assim como ampliaram o conhecimento da diversidade de fungos do Brasil.

Uma das importantes mudanças feitas na classificação de Russulaceae com base em análises moleculares que ocorreu foi o resgate do gênero *Lactifluus*. Várias espécies que no início desse trabalho estavam sendo tratadas como *Lactarius*, foram transferidas para *Lactifluus*. Além dos caracteres morfológicos, os dados moleculares preliminares obtidos com o marcador ITS ajudaram a confirmar a classificação das espécies brasileiras dentro do novo gênero. Não houve coleta de nenhuma espécie de *Lactarius* no decorrer desse trabalho.

Como principais resultados deste trabalho são apresentadas descrições e ilustrações de 17 espécies de Russulaceae do Brasil, sendo 14 novas para a ciência, uma nova citação para o Brasil e outra citada pela primeira vez para os estados do Rio de Janeiro, Santa Catarina e Paraíba. O grande número de novos táxons era esperado, visto que Russulaceae havia sido pouco estudada no Brasil.

Este é o primeiro trabalho a incluir uma análise molecular com sequências de espécies de Russulaceae do Brasil.

Dois artigos foram redigidos para serem submetidos a periódicos especializados. Os resultados dos estudos moleculares precisam ser complementados para serem organizados e submetidos para publicação. Por só ter sido realizado o sequenciamento do marcador ITS, ainda não foi possível obter uma hipótese filogenética bem suportada para os táxons estudados. O sequenciamento de um segundo gene que codifica para LSU está previsto para ser feito e complementar os dados deste trabalho, para então termos uma filogenia com dados mais robustos para publicação.

Russulaceae, embora seja considerada como bem estudada em especial na Europa e nos Estados Unidos, é uma família que necessita de muitos estudos para tentar elucidar as relações entre as espécies, assim como para uma melhor definição dos gêneros.

São necessários também estudos referentes às relações simbióticas destes fungos com as plantas, uma vez que sabe-se que a grande maioria das espécies de Russulaceae é micorrízica. No Hemisfério Norte conhece-se muito bem os hospedeiros desses fungos, que incluem na maioria dos casos, espécies de Fagaceae e Pinaceae. Conhecer as relações ectomicorrízicas e os hospedeiros dos táxons neotropicais de Russulaceae é uma proposta para a continuação deste trabalho.

Os objetivos propostos para este trabalho foram alcançados satisfatoriamente, porém ainda há muito que se explorar nos neotrópicos. Este foi o primeiro levantamento de espécies de Russulaceae que inclui diversas regiões do Brasil e, certamente, a realização de novos estudos levará a resultados ainda mais interessantes.