# Estudo sistemático de espécies de *Panus* Fr. (Panaceae, Basidiomycota) que ocorrem no território brasileiro

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Biologia de Fungos, Algas e Plantas da Universidade Federal de Santa Catarina para a obtenção do Grau de mestre em Biologia de Fungos, Algas e Plantas Orientador: Prof. Dr. Elisandro Ricardo Drechsler dos Santos Coorientadora: Prof. Dr<sup>a</sup>. Maria Alice Neves

Florianópolis 2018 Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Guimarães, Denyse Kalyne Sousa

Estudo sistemático de espécies de *Panus* Fr. (Panaceae, Basidiomycota) que ocorrem no território brasileiro/ Denyse Kalyne Sousa Guimarães; Orientador, Elisandro Ricardo Drechsler dos Santos, Coorientadora, Maria Alice Neves, 2018. 105 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Biológicas, Programa de Pós-Graduação em Biologia de Fungos, Algas e Plantas, Florianópolis, 2018.

Inclui referências

 Biologia de Fungos, Algas e Plantas. 2. Sistemática filogenética. 3. Fungos lentinoides. 4. Panaceae.
I. Drechsler dos Santos, Elisandro Ricardo . II. Neves, Maria Alice. III. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Biologia de Fungos, Algas e Plantas. IV. Título.

# "Estudo sistemático de espécies de *Panus* Fr. (Panaceae, Basidiomycota) que ocorrem no território brasileiro"

por

# Denyse Kalyne Sousa Guimarães

Dissertação julgada e aprovada em sua forma final pelos membros titulares da Banca Examinadora (Port. 08/PPGFAP/2018) do Programa de Pós-Graduação em Biologia de Fungos, Algas e Plantas - UFSC, composta pelos Professores Doutores:

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Elisandro Ricardo Drechsler dos Santos

Prof. Dr. Nelson Menolli Júnior - Videoconferência

Profa. Dra. Mayara Krasinski Caddah

Prof. Dr. Pedro Fiaschi Coordenador do Programa de Pós-Graduação em Biologia de Fungos, Algas e Plantas

Florianópolis, 29 de maio de 2018.

Dedico este trabalho aos meus pais Francinalda e Adalto, meus avós maternos (Luzia e Adelino) e paternos (Vera Lúcia e Zeca Guimarães) pelo apoio incondicional em todos os momentos da minha vida.

# AGRADECIMENTOS

A Deus por seu infinito amor e pela oportunidade de conhecer e conviver com pessoas maravilhosas.

Aos meus pais Adalto e Francinalda por direcionarem a mim todo amor que um filho sonhou em receber e assim dar a base para eu chegar até aqui. Amo muito vocês.

Aos meus avós maternos (Luzia e Adelino) e paternos (Vera Lúcia e Zeca Guimarães) por nunca me deixarem só e por depositarem em mim mais que um amor de neto.... Eu os amo incondicionalmente.

Ao meu grande núcleo familiar (composto por aproximadamente 100 mil pessoas), por tantas vezes que fui obrigada a me privar de momentos juntos para me dedicar aos estudos. Mas hoje após todo esse esforço eu posso dizer que dedico a eles este trabalho como um presente que foi feito com muito carinho e dedicação.

Cabe destacar a minha querida tia Elisângela Guimarães Moura Fé, sem a sua ajuda eu, para começo de conversa nem teria escolhido Ciências Biológicas. Obrigada por ser uma inspiração, por você eu sinto um orgulho imenso.

As mulheres da minha vida: Ana Caroline, Alana Gabrielle, Beatriz Moura, Bruna Ravena e Clara Guimarães, (primas, irmãs, afilhadas) obrigada por existirem e por serem presentes na minha vida, eu as amo muito!

Aos meninos: Adalto Junior, Bruno Cézar e Pedro Felipe!!!

Ao meu querido amigo e orientador Elisandro Ricardo Drechsler-Santos, agradeço por de forma séria ou irônica me fazer desbravar um caminho e aperfeiçoamento necessário que só enxergaria ao final deste trabalho e que faria toda a diferença. Te admiro cada dia mais, pelo profissional, pai e amigo!

A Maria Alice Neves por me coorientar, por todos os conselhos e por se mostrar uma mulher guerreira, forte e determinada... você é uma inspiração.

A Márcia Percília Moura Parente por me mostrar o qual incrível é o reino dos fungos, e por todo apoio dado quando decidi fazer mestrado para essa área (Micologia). Você é uma excelente educadora!!!

Aos amigos da turma 2016.1 – PPGFAP, com quem tantos aprendi e dividi experiências, desejo que tenham sucesso no caminho que escolherem trilhar ao findar este ciclo.

Á aquelas residentes do 403 (Ana, Eli e Lú). Claro que você está incluso nisso Japa. Vocês tornaram a estádia em Floripa mais fácil. Em

especial agradeço a Ana e Eli pelas horas de conversas, risos e por me entenderem ao ponto de me deixar quieta quando eu necessitava desse tempo.

Minhas amigas lindas Jacqueline Graff e Emanoele Copini, confidentes, parceiras de pós e da Vida!!! Sem vocês esses dois anos não seriam nem de longe o que foram. Palavras de gratidão são escassas para dizer o que fizeram por mim e para mim nesses dois anos. Líquenlindas!

A Rebeca Moura, por surgir repentinamente e parecer ser uma amiga de longas datas. Talvez eu seja a amiga que você mereça ter ao seu lado, mas tenhas a certeza que você se tornou muito importante para mim. Obrigada por me fazer gostar de atividade física e por estar presente em momentos importantes da minha vida.

A Ari, Mari, Meli, Maryzinha e Lú Silva por terem sido tão pacientes e solícitas, por sempre me estimularem a ser cada dia melhor e pelo imenso carinho. Vocês são mulheres amáveis e admiráveis!!!

Agradeço aos queridos amigos do micolab, Ari, Manuzinha, Carlitos, Jaime, Maryzinha, Maridê, Meli, Pam, Cauê, Fê, Jú, Lina, Thiaguinho, Gi, Gus, Felipinho, Duda e Diogo. Da sistemática, Ane, Camila, Lú Silva e Lú Gningler.

Aos queridos amigos Carlitos, Diogo, Marcel e Samuquinha pelos conselhos e auxilio na vida acadêmica e fora dela também. Obrigada por estarem sempre dispostos a me ajudar. Vocês formam um timaço de Micólogos.

A Olga pelo auxilio nas análises filogenéticas moleculares. E a Júlia por se dispor a me ajudar na construção da chave dicotômica. Vocês foram demais!!!

Outros que ultrapassam os limites do laboratório, mas estão sempre em minha vida como bons e grandes amigos, Wllynha, Fefe, Josu, Ely, Xavier e Paty, obrigada pelas horas e horas ouvindo minhas alegrias e aflições. Que amigos vocês são!

Ao Professores Nelson Menolli Júnior pelos ensinamentos inicias a cerca desse grupo incrivelmente maravilhoso, e Aristóteles Góes Neto pelo apoio dado na realização deste trabalho.

A todos os queridos mestres do PPGFAP e ao secretário (Carlos Eduardo). E a CAPES via PPGFAP-UFSC, pela bolsa concedida, desta forma permitindo a realização deste trabalho.

"Nas minhas maiores oscilações, nunca desci até ao ateísmo, nunca neguei a existência de Deus."

(Charles Darwin, 1887)

#### **RESUMO**

Panus é caracterizado por apresentar basidiomas solitários a cespitosos, pileado-estipitados, píleo coreáceo, infundibiliforme a ciatiforme, superfície superior velutina, radialmente estriado, margem geralmente involuta, estipe cilíndrico, central a excêntrico, himenóforo lamelar com lamelas decurrentes. O sistema hifal é dimítico com hifas generativas, fibuladas e esqueletais, tipicamente não ramificadas de parede espessada, os basídios clavados, tetraesporados, com basidiósporos elipsoides, lisos IKI-, os cistídos apresentam parede fina e/ou parede espessa (pleurocistídos e queilocistídios) e a pileipeles é indiferenciada, do tipo epicutis, às vezes tricodermal. Algumas espécies podem apresentar pseudoesclerócio. O gênero apresenta distribuição cosmopolita, cresce em madeira morta no solo, causando podridão branca. Este trabalho apresenta aspectos taxonômicos e filogenéticos sobre Panus, a partir de análises morfológicas (macro e micro), bem como filogenéticas moleculares. Ao todo, foram revisados morfologicamente 118 espécimes representando 12 espécies de Panus. Dentre essas, três novas espécies são propostas e uma nova combinação. Foram obtidas 70 sequências (ITS e LSU) e os resultados das análises filogenéticas moleculares corroboram a posição de todos os espécimes testados como pertencentes ao gênero Panus, bem como de duas das três espécies novas. Esse é o primeiro estudo sitemático, a partir de análises filogenéticas moleculares e de delimitação molecular de espécies, que se propõe a testar as hipóteses morfológicas das espécies de Panus com registro de ocorrência no território brasileiro. Neste sentido P. fulvus e P. strigellus são aqui tratados em um sentido mais amplo, por apresentarem evidências da possibilidade de serem complexos de espécies. Descrições morfológicas, ilustrações e uma chave para as espécies estudadas são apresentadas.

**Palavras-chave**: Taxonomia. Filogenia. Fungos degradadores de madeira.

#### ABSTRACT

*Panus* is characterized by presenting basidiomata solitary to cespitose, pileate-stipitated, coreaceus infundibiliform to cyathiform, upper surface velutinous, radially striated, margin often involute, central to excentric cylindrical stipe, lamellate hymenphore with lamellae decurrent. The hyphal system is dimitic with generative hiphae with clamp-connections and skeletal hyphae typically unbranched with a thickened wall, basidia clavate, bearing four sterigmata, with basidiospores ellipsoid, thinwalled, smooth, IKI-, cystidia thin or thick-walled (pleurocystidia and cheylocystidia) pileipellis undifferentiated, epicutis type, sometimes tricodermal. Some species may present a pseudosclerotium. The genus presents a cosmopolitan distribution, growing on dead wood in the soil causing white rot. This work presents taxonomic and phylogenetic aspects on Panus, from morphological (macro and micro) as well as molecular phylogenetic analysis. In total, 118 specimens were morphologically studied, representing 12 species of Panus. Among these, three new species and a new combination are proposed. 70 sequences (ITS and LSU) were obtained and the results of the molecular phylogenetic analysis corroborate the position of all the specimens tested as belonging to the genus Panus as well the two of the three new species. This is the first systemic study, based on molecular phylogenetic analyzes and molecular species delimitation, which aims to test the morphological hypotheses of the Panus species with a record of occurrence in the Brazilian territory, in this sense P. fulvus and P. strigellus are here treated in sensu lato, for presenting evidence of the possibility of being complexes of species. Morphological descriptions, illustrations and a key for the species studied are presented.

Keywords: Taxonomic. Phylogeny. Wood decaying fungi.

### LISTA DE FIGURAS

# CAPÍTULO ÚNICO

Figura 1. Reconstrução filogenética de membros do gênro Panus inferidas a partir dos marcadores ITS e LSU. A topologia é da análise de máxima verossimilhança. Os valores de sustentação do Bootstrap (antes dos marcadores de barra) e Probabilidade Posterior (depois dos marcadores de barra) são indicados próximo aos nós dos ramos. Os valores de sustentação abaixo de 70% de bootstrap não são indicados nos ramos. Nomes em negrito são as sequências oriundas deste Figura 2. Reconstrução filogenética de membros do gênero Panus inferidas a partir do marcador ITS, juntamente com as análises de ABGD e PTP. A topologia é da análise de máxima verossimilhança. Os valores de sustentação do Bootstrap (antes dos marcadores de barra) e Probabilidade Posterior (depois dos marcadores de barra) são indicados. Os valores de sustentação abaixo de 70% bootstrap não são indicados nos ramos. Nomes em negrito são sequências oriundas deste Figura 3. Análise de Barcode gap das espécies filogenéticas de Panus com base nas distâncias intespecíficas e intraespecíficas da região ITS. Cada ponto emparelhado representa um par de comparações. Todas as comparações intraespecíficas são tracadas na coluna "A" e todas as interespecíficas são plotadas na coluna "B" do eixo X. As distâncias genéticas são tracadas no eixo Figura 4. Gráfico mostrando a relação entre a divergência intraespecífica prévia Figura 5 Panus ciliatus a. vista geral do basidioma fresco. b. detalhe da superfície superior do píleo. c. detalhes do himenóforo. d. vista geral do basidioma desidratado. Barra de escala =1 cm. e. hifas generativas, escala: 5 µm. f. basidiósporos, escala: 5 µm. g. basídios. h. pleurocistídios. i. queilocistídios. Figura 6. Panus fulvus. a. c. d. basidiomas desidratado. b. detalhe do himenóforo. Figura 7. Panus fulvus. a. hifas generativas de parede espessa. b. basidiósporos, escala: 5 µm. c. basídios. d. pleurocistídios. e. queilocistídios. Barra de escala Figura 8. *Panus similis*, a. vista geral do basidioma, escala = 1 cm. b. detalhe da superfície superior do píleo, escala = 1 cm. c. detalhe das lamelas subdistantes, escala = 1 cm. d. hifas generativas de parede espessa, escala: 5  $\mu$ m. e. basidiósporos, escala: 5 µm. f. basídios. g. pleurocistídios. h. queilocistídios. Figura 9. Basidiomas de Panus strigellus s. a. vista geral de basidiomas em estágio inicial de desenvolvimento. b. e c. vista geral do basidioma maturo d.

detalhe do estipe e. detalhe da superfície superior do píleo. Barra de escala =1 Figura 10. Basidiomas de Panus strigellus s. l. a. e. h. detalhes dos basidiomas desidratados c. detalhe do himenóforo b. d. f. e g. detalhe da superfície superior do píleo. Barra de escala =1 cm. (holótipo de Panus parvus- g. e h.)......68 Figura 11. Panus strigellus. a. hifas generativas, escala: 5 µm. b. basidiósporos, escala: 5 µm. c. basídios. d. queilocistídios. e. pleurocistídios. Barra de escala Figura 12. Panus cf. tephroleucus a. e d. vista geral do basidioma fresco e desidratado. b. e c. detalhe da superfície superior do píleo fresco e desidratado. Figura 13. Panus cf. tephroleucus a. hifas generativas, escala: 5 µm. b. basidiósporos, escala: 5 µm. c. basídios. d. pleurocistídios. e. queilocistídios. Barra de escala =10 µm......73 Figura 14. Panus velutinus a. vista geral do basidioma, escala= 2 cm b. detalhe da superfície superior do píleo. c. detalhes do himenóforo. Barra de escala = 1 cm. Figura 15. Panus velutinus. a. hifas generativas, escala: 5 µm. b. basidiósporos, escala: 5 µm. c. basídios. d. queilocistídios. e. pleurocistídios. Barra de escala Figura 16. Panus sp. nov. 1 a. d. e g. vista geral do basidioma desidratado. b. detalhe da superfície superior do píleo. c. detalhes do himenóforo. d. detalhe do Figura 17. Panus sp. nov. 1 a. hifas generativas, escala: 5 µm. b. basidiósporos, escala: 5 µm. c. basídios. d. queilocistídios. e. pleurocistídios. Barra de escala Figura 18. *Panus* sp. nov.2 a. e b. vista geral do basidioma fresco e desidratado. Figura 19. Panus sp. nov. 2 a. hifas generativas b. basidiósporos, escala: 5 µm. c. basídios. d. pleurocistídios. e. queilocistídios. Barra de escala =10 µm. ......86 Figura 20. Panus sp. nov. 3 a e b. vista geral do basidioma c. detalhe do basidioma jovem d. detalhe do estipe e substrato. Barra de escala = 1cm. ......90 Figura 21. Panus sp. nov. 3. a. hifas generativas, escala: 5 µm. b. basídios. c. pleurocistídios. d. queilocistídios. e. basidiósporos. Barra de escala =10 µm. ..91

#### LISTA DE TABELAS

#### **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

# CAPÍTULO ÚNICO

Tabela I. Espécies, coleções e sequências utilizados nos estudos filogenéticos e seus números de acesso no Genbank. (\*) Representa as novas sequencias geradas nesse Tabela II. Características comparativas entre Panus campinenses (Teixeira) Drechsler-Santos & Robledo comb. nov., Panus fulvus Pegler & R. W. Rayner, Panus velutinus (Fr.) Sacc. e Panus sp. nov. Tabela III. Características comparativas entre Panus levis Berk. & M. A. Curtis, Lentinus striatulus Lév., Panus hirtiformis (Murrill) Drechsler-Santos & Wartchow e *Panus* sp. nov. 2 Tabela IV. Características comparativas entre Panus campinenses (Teixeira) Drechsler-Santos & Robledo comb. nov., Panus fulvus Pegler & R. W. Rayner, Panus velutinus (Fr.) Sacc. e Panus sp. nov. 3 

# SUMÁRIO

| 1. INTRODUÇÃO  | 21                 |
|--|--------------------|
| 2. OBJETIVOS   | 23                 |
| 2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS  | 23                 |
| 3. MATERIAIS E MÉTODOS   | 24                 |
| 3.1 COLEÇÕES   | 24                 |
| 3.2 ANÁLISES MORFOLÓGICAS  | 24                 |
| 3.3 EXTRAÇÃO, AMPLIFICAÇÃO, PURIFICAÇÃO<br>SEQUENCIAMENTO DE DNA   | E<br>25            |
| 3.4 ALINHAMENTO DAS SEQUÊNCIAS E ANÁLI<br>FILOGENÉTICAS  | SES<br>28          |
| 3.5 ANÁLISES MOLECULARES DE DELIMITAÇÃO<br>ESPÉCIES  | DE<br>29           |
| 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO  | 31                 |
| CÁPITULO ÚNICO – Análises moleculares (filogenéticas e de barc<br>e morfológicas de <i>Panus</i> (Panaceae, Polyporales) no Brasil revelam<br>novas espécies da Mata Atlântica | ode)<br>três<br>33 |
| 5. CONSIDERAÇÕES FINAIS<br>6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS   | .102<br>.103       |

# 1. INTRODUÇÃO

Panaceae Miettinen, Justo & Hibbett, recentemente descrita por Justo et al. (2017), é caracterizada por apresentar espécies com basidiomas pileado-estipitados, com himenóforo lamelar ou liso, sistema hifal dimítico com hifas generativas fibuladas e hifas esqueletais tipicamente não ramificadas, basidiósporos de parede fina, lisa, hialinos e inamiloides, e cistídios de parede fina e/ou de parede grossa (Justo et al. 2017). Compreende os gêneros *Cymatoderma* Jungh. e *Panus* Fr., compostos por espécies saprófitas (que crescem em troncos mortos caídos no solo) que causam podridão branca (degradando lignina, celulose e hemicelulose do substrato) (Hibbett et al. 1993, Ejechi et al. 1996).

*Panus* é o gênero tipo de Panaceae e foi descrito por Fries em 1838, sendo o basônimo *Agaricus conchatus* Bull. [ $\equiv$  *Panus conchatus* (Bull) Fr.] (Miller, 1973), e caracteriza-se pela combinação de basidiomas infundibiliformes a ciatiformes, central a excentricamente estipitados, himenóforo lamelar, sistema hifal dimítico, basidiósporos elipsoides, lisos de parede fina que não reagem na presença do reagente Melzer (Corner, 1981; Pegler, 1983, como *Lentinus* subgênero *Panus*).

Do ponto de vista da sistemática do grupo, *Panus* merece uma atenção taxonômica, não só por ser macromorfologicamente de difícil distinção com espécies de outros gêneros, mas por ser pouco estudado no Brasil e por apresentar complexos taxonômico (Pegler 1983; Vargas-Isla et al. 2012). A princípio, o gênero foi tratado em Agaricales, porém estudos morfológicos corroboraram a presença de um sistema hifal dimítico (principalmente com base na presença de hifas esqueletais no contexto dos basidiomas) o qual sugere que deveria ser considerado como agrupamento de Polyporales (Moser, 1978; Pegler, 1975, 1983; Kühner, 1980; Singer, 1986). Logo, a partir de estudos moleculares, a posição filogenética do gênero foi corroborada em Polyporales, assim com os primeiros estudos moleculares de *Lentinus* s. 1. (gênero morfologicamente relacionado com *Panus*), realizados por Hibbett & Vilgalys (1991, 1993).

Pegler (1975, 1983) considerava *Panus* como subgênero de *Lentinus*, com base em caracteres morfológicos. Embora alguns autores consideressam se tratar de gêneros distintos (*e.g.* Corner, 1981), foi somente após o trabalho de Hibbett & Vilgalys (1993), com a utilização de ferramentas moleculares, que a posição genérica de *Panus* foi consolidada.

Os trabalhos envolvendo filogenia molecular que incluem materiais de *Panus* tiveram como finalidade compreender as relações

filogenéticas em nível taxonômico de ordem e gênero, utilizando os marcadores moleculares nucLSU, mitLSU, mitSSU, nucSSU, *atp*6, RPB1, RPB2 e TEF-1 $\alpha$  (*e. g.*, Justo et al. 2017; Zmitrovich & Kovalenko, 2016; Hussein et al. 2014; Hibbett & Vilgalys, 1991, 1993). Hibbett & Vilgalys (1993), indicaram o monofiletismo de *Panus* a partir de análises filogenéticas moleculares com espécimes de *Lentinus* s. l.

Por apresentar morfologia semelhante à *Lentinus*, as espécies de *Panus* são facilmente confundidas com as espécies do gênero anteriormente mencionado (Arun Kumar & Manimohan 2005; Manimohan et al. 2004; Sumaiyah et al. 2007; Karunarathna et al. 2011b; Senthilarasu et al. 2012; Drechsler-Santos et al. 2012; Njouonkou et al. 2013). No entanto, filogeneticamente, *Panus* é grupo irmão de *Cymatoderma*, que por sua vez apresenta morfologia distinta, ambos pertencentes à Panaceae (Justo et al. 2017).

*Panus* é considerado cosmopolita, e suas espécies podem ser encontradas em ecossistemas florestais de áreas boreais, temperadas, subtropicais e/ou tropicais (Corner 1981; Pegler 1983). Contudo, são poucos os trabalhos que apresentam informações sobre suas espécies na região neotropical (*e. g.* Rick, 1938; Pereira, 1988; Lechner et al. 2005, 2006; Bononi et al. 2008; Drechsler-Santos et al. 2012; Vargas-Isla et al. 2015).

Os estudos com ênfase nos aspectos taxonômicos do grupo são as monografias de Corner (1981) e Pegler (1983) e os sistemáticos moleculares são de Hibbett & Vilgalys (1991, 1993), Hussein et al. (2014), e Justo et al. (2017). A base para os estudos taxonômicos com o grupo, principalmente no Brasil tem sido a partir de ferramentas morfológicas (e.g. Rick 1938, Teixeira 1946, Drechsler-Santos et al. 2012). Contudo, Vargas-Isla et al. (2015) publicaram um trabalho que uniu ferramentas morfológicas, moleculares e biológicas, neste caso, especificamente, para inferir sobre a delimitação de *P. lecomtei* (Fr.) Corner e *P. strigellus* (Berk.) Overh.

Panus apresenta aproximadamente 35 espécies, dentre essas, nove já formam registradas para o Brasil [*P. ciliatus* (Lév.) T. W. May & A. E. Wood, *P. convivalis* Corner, *P. fulvus* (Berk.) Pegler & R. W. Rayner, *P. lecomtei*, *P. parvus* Drechsler-Santos & Wartchow, *P. similis* (Berk. & Broome) T. W. May & A. E. Wood, *P. striguellus*, *P. tephroleucus* (Mont.) T. W. May & A. E. Wood, *P. velutinus* (Fr.) Sacc.] (Saccardo 1887; Lloyd 1923; Pilát 1936; Rick 1938; Corner, 1981; Pegler 1983, Drechsler-Santos et al. 2012). Drechsler-Santos et al. (2012) realizaram estudos com *Panus* na caatinga e além da ampliação da distribuição de espécies, descreveram *Panus parvus* e fizeram novas combinações [*P. caespiticola* (Pat. & Har.) Drechsler-Santos & Wartchow e *P. hirtiformis* (Murrill) Drechsler-Santos & Wartchow]. Além disso, apresentam *P. neostrigosus* Drechsler-Santos & Wartchow, como um novo nome para *L. strigosus* Fr. *Panus neostrigosus* foi tratado posteriormente por Vargas-Isla et al. (2015) como sinônimo de *P. lecomtei* (Fr.) Corner, pois esse nome teria prioridade sobre o primeiro.

Como exposto, *Panus* apresenta um considerável número de espécies conhecidas e é amplamente distribuído pelo globo. No entanto, até o momento, nenhum estudo filogenético foi realizado na região Neotropical para testar as espécies de *Panus* que ocorrem no Brasil. Posto isso, um tratamento taxonômico, considerando a morfologia e análises filogenéticas e de delimitação de espécies a partir de marcadores moleculares, poderia contribuir para o entendimento das delimitações e posições filogenéticas das espécies do gênero que já foram registradas como ocorrentes para o Brasil, bem como de táxons proximamente relacionados.

# 2. OBJETIVOS

Apresentar uma filogenia das espécies de *Panus* que ocorrem no território brasileiro com intuito de testar hipóteses morfológicas bem como dar o tratamento taxonômico para as novidades científicas, a partir do uso de ferramentas morfológicas e moleculares.

# 2.1 OBJETIVO ESPECÍFICOS

- Revisar macro e micromorfologicamente espécimes previamente determinados como sendo *Panus* de herbários e de coletas já realizadas pelo grupo de pesquisa do MICOLAB-UFSC, de diferentes ecossistemas brasileiros;
- Obter sequências das regiões ITS e LSU dos materiais coletados;
- Interpretar as espécies e possíveis linhagens correspondente a espécies novas, a partir de análises morfológicas e moleculares, bem como suas realções filogenéticas.

# **3. MATERIAL E MÉTODOS**

# 3.1 COLEÇÕES

Os espécimes de Panus foram coletados nos domínios fitogeográficos da Amazônia (Pará), área de transição caatinga e cerrado (Piauí), Cerrado (Mato Grosso) e Mata Atlântica (Bahia, São Paulo, Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul) tanto realizadas pela autora como por colaboradores. Os basidiomas coletados foram levados para o laboratório de Micologia da UFSC e em seguida mantidos por 12 a 24h em secadora para desidratação (30° a 38°C). Também foram armazenados fragmentos dos basidiomas em microtubos com sílica-gel, retirados ainda fresco, a fim de preservar o DNA para estudos moleculares. Os espécimes coletados foram depositados no Herbário FLOR. Também foram solicitados empréstimos de materiais de referência depositados nos Herbários FLOR, PACA e SP-Fungi. Os acrônimos dos herbários estão de acordo com a base de dados Index Herbariorum (Thiers, continuamente atualizado). aspectos nomenclaturais, Os como sinonímias, autoria, datas e protólogos dos nomes relacionados com espécies dos gêneros em questão foram consultados.

# 3.2 ANÁLISES MORFOLÓGICAS

Para descrição morfológica macroscforam observados: píleo (dimensões, formato, superfície, cor, margem), himenóforo (cor, espaçamento das lamelas), estipe (dimensões, posição, formato, superfície e cor) e outras características como presença ou ausência de pseudoesclerócios. As determinações das cores foram realizadas de acordo com o catálogo de Küppers (1979).

Para observação e descrição dos caracteres microscópicos estruturais foram realizados cortes a mão livre de secções transversais às lamelas para estudos do sistema hifal, presença ou ausência de elementos estéreis, basídios e basidiósporos, e de secções radiais ao píleo e do estipe para observação da estipitepelis e pileipelis. O sistema hifal foi descrito a partir de Teixeira (1995). Os formatos de basídios, pleurocistídios e queilocistídos estão de acordo com descrição de Vellinga & Noordeloos (2001).

O registo "[a / b / c]" no início de um conjunto de dados de basidiósporos deve ser lido como "*a* basidiósporos foram medidos a partir de *b* basidioma(s) retirado(s) de coleções *c*". Os basidiósporos foram

medidos em visão lateral, sempre 30 basidiósporos de cada basidioma, e os termos usados para descrever o formato dos basidiósporos segue Stalpers (1996) e a base de dados de *Resupinate Russulales* (http://www.cbs.knaw.nl/russulales/), que é baseada no Q, que representa o intervalo do quociente comprimento / largura para todos os esporos medidos; Q<sub>m</sub> representa a média de todos os valores de Q calculados para todos os basidiósporos medidos, enquanto que L<sub>m</sub> e W<sub>m</sub> representam, respectivamente a média de todos os comprimentos e de todas as larguras dos basidiósporos medidos.

Os cortes foram preparados em lâminas semi-permanentes com diferentes soluções e reagentes como KOH 3% (hidrante para coloração natural das hifas e basidióporos), Floxina 1% (corante para observar as características das hifas generativas, himênio e basidióporos), Vermelho Congo (corante usado para observar as características das estruturas estéreis), Azul de Cresil (corante usado para observação de reação metacromática nas estruturas estéreis) e reagente de Melzer (reagente usado detectar reações amiloide ou dextrinoide na hifas e basidiósporos), em combinação adequada ou separadamente. Para observar os tipos de hifas foi utilizado NAOH 5%. A mensuração das estruturas (N= 30) foi realizada com auxílio de uma ocular com régua micrométrica acoplada. Os valores obtidos, das estruturas microscópicas, foram planilhados no Microsoft Excel para calcular média e desvio padrão na variação dos valores ( $\Delta s = 5\%$ ). Os desenhos das microestruturas foram feitos à mão livre a partir de imagens digitais dos materiais em estudo.

# 3.3 EXTRAÇÃO, AMPLIFICAÇÃO, PURIFICAÇÃO E SEQUENCIAMENTO DE DNA

Os procedimentos de extração, amplificação e purificação foram realizados no Laboratório de Biologia Molecular do Departamento de Botânica - UFSC. Alguns produtos da amplificação foram enviados para a reação de sequenciamento na Plataforma de Tecnologias (PDTIS) da Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ) de Belo Horizonte-MG, no âmbito do projeto de BrBol - "Identificação molecular de fungos do Brasil". Outras amostras foram enviadas para a empresa Myleus-Biotechnology de Belo Horizonte-MG, com financiamento do Professor Dr. Aristóteles Góes-Neto (UFMG).

A extração do DNA genômico total dos materiais coletados foi realizada de acordo com a metodologia proposta por Góes-Neto et al. (2005), utilizando o tampão CTAB 2% pré-aquecido. Os fragmentos dos basidiomas foram macerados com o auxílio de nitrogênio líquido, em gral de porcelana com auxílio de um pistilo. Os produtos do processo de maceração foram colocados em tubos de 2 mL, sendo posteriormente adicionados 850  $\mu$ L do tampão CTAB-Brometo de Cetil-trimetil-amônio (100 mM Tris–HCl pH 8, 1,4 M NaCl, 2% CTAB, 20 mM EDTA, 1% PVP) (Rogers & Bendich, 1985) e mantido em banho-maria a 65°C durante um período de 40 a 60 minutos. Após essa incubação, o extrato foi lavado com clorofórmio:álcool isoamílico (24:1), precipitado em isopropanol (1:1), lavado com 1 mL de etanol 70% e ressuspendido em 50  $\mu$ L de água Mili-Q ultra pura.

Os produtos de extração foram diluídos nas proporções de 1:10 e 1:50, que correspondem a uma parte de DNA total com Água MilliQ (água deionizada purificada em sistema Milli-Q (Millipore Corporation) autoclavada.

Para amplificação por reação PCR, o mix foi preparado contendo 4  $\mu$ L de DNA diluído, 6  $\mu$ L de água Mili-Q ultra pura, 13  $\mu$ L de Master Mix (Promega) e 1  $\mu$ L de cada *primer* (10 pmol/L).

Para amplificação (reações de PCR), as regiões-alvo escolhidas foram ITS e LSU do DNA. Para as regiões ITS1-5.8S-ITS2 os primers procedimento foram ITS1 (5' empregados no TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3') e ITS4 (5' -TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') (White et al. 1990). Para a região LSU foram utilizados os primers LROR (5'-ACC CGC TGA ACT TAA GC-3') e LR5 (5'-TCC TGA GGG AAA CTT CG-3') (Vilgalys & Hester 1990). Os parâmetros utilizados para ITS e LSU durante os ciclos térmicos estão discriminados na tabela I.

Tabela I – *Primers* e configurações utilizadas na amplificação dos dois marcadores moleculares via reação de PCR (*Polymerase Chain Reaction*). Temperaturas e tempo de D= desnaturação. AN= anelamento. E= extensão.  $\infty$ = tempo não determinado.

| Marcador/Primers    | D1      | D2      | AN               | E1        | E2      | Final |
|---------------------|---------|---------|------------------|-----------|---------|-------|
| ITS<br>ITS1F– ITS4R | 94°/ 5' | 94°/ 3' | 35x<br>50°/ 30"  | 72°/1'    | 72°/10' | 12°/∞ |
| LSU<br>LROR– LR5    | 94°/ 5' | 94°/1'  | 35x<br>50°/1'20" | 72°/1'30" | 72°/10' | 12°/∞ |

Os produtos de amplificação foram purificados de acordo com protocolo com Polietilenoglicol (PEG; Sambrook et al. 1989) a 20% para eliminação de possíveis impurezas e reagentes, e posteriormente sequenciados pelo método Sanger em sequenciador automático.

# 3.4 ALINHAMENTO DAS SEQUÊNCIAS E ANÁLISES FILOGENÉTICAS

Os cromatogramas gerados foram vistoriados e editados manualmente no *software* Geneious versão 9.0.5 (Kearse et al. 2012). A presença de ambiguidades indicando posições heterozigotas, foram anotadas de acordo com o código do *International Union of Pure and Applied chemistry* (IUPAC). As sequências geradas durante a realização da pesquisa e de taxóns relacionados depositadas em repositórios foram agrupadas de acordo com o marcador utilizado e alinhadas no MAFFT v.7 (Katoh 2013), o alinhamento foi posteriormente editado manualmente através do *software* MEGA v.7 (Kumar et al. 2016). Regiões de alinhamento ambíguo do ITS1 e ITS2 foram removidas com o programa Gblock 0.91b (Castresana, 2000; Dereeper et al. 2008) conforme os parâmetros: *Minimum number of sequences for a conserved position*: 27; *Minimum number of sequences for a flank positions*: 45, *Maximum number of contiguous nonconserved positions*: 8; *Minimum length of a block*: 5; *allowed gap position*: with half.

Para as análises filogenéticas foi montado uma matriz individual para cada marcador, com as sequências obtidas pela pesquisa e aquelas disponibilizadas no banco de dados do GenBank (ncbi.nlm.nih.gov/genbank/, Benson et al., 2005).

Para a construção e análise das árvores filogenéticas a partir das sequências alinhadas, foram utilizados os métodos de Máxima Verossimilhança (ML) com 1.000 pseudoreplicações (*bootstrap*), utilizando o programa RAxML versão 8.2.10 (Stamatakis 2014) e Inferência Bayesiana (IB), utilizando o Mr. Bayes v. 3.2.6 (Ronquist et al. 2012). O modelo de evolução molecular mais adequado aos dados foi obtido através do programa jModelTest2 v.2. 1.6 usando o AIC (*Akaike Information Criterion*) (GASCUEL, GUINDON, 2003; DARRIBA et al., 2012). Os programas foram utilizados pela plataforma CIPRES (https://www.phylo.org/ Miller et al. 2010).

A análise de ML envolveu 100 buscas, cada uma a partir de uma árvore de parcimônia de adição passo a passo aleatória, sob o modelo GTRGAMMA, sem proporção de sites invariantes e todos os outros parâmetros estimados pelo *software*.

Após obtenção das topologias finais de ML e IB, suas congruências foram avaliadas visualmente, sendo considerados incongruentes apenas clados com configuração diferente que apresentassem suporte significativo, e em todos os casos a topologia de ML foi selecionada, e os valores de IB e foram anotados. A configuração gráfica da árvore, quanto a rotação e disposição dos táxons na topologia, foi primeiro realizada no programa FigTree® v1.4.0. As árvores posteriormente foram salvas em formato PDF, e editadas graficamente no CorelDraw®.

Ao final do trabalho todas as sequências obtidas foram depositadas no banco de dados moleculares GenBank.

# 3.5 ANÁLISES MOLECULARES DE DELIMITAÇÃO DE ESPÉCIES

A análise de *Poisson Tree Processes* PTP (ZHANG et al, 2013) foi realizada a partir da análise final de Máxima Verossimilhança, através da plataforma *The Exelixis Lab* (http://species.h-its.org/ptp/), com os parâmetros propostos por Zhang et al., 2013. Na plataforma a árvore de máxima verossimilhança foi anexada no item *My phylogenetic input tree, if input file contains multiple trees, only the first tree will be used*. Os parâmetros utilizados foram: *My tree is: unrooted; no. MCMC generations: 100000; thinning: 100; burn-in: 0,1; Seed: 123; Outgroup taxa names (if any): Steccherinum nitidum* FD-105195. Esta análise resuloua em agrupamentos de espécies moleculares a partir dos comprimentos dos ramos do filograma de máxima verossimilhança.

A análise de Automatic Barcode Gap Discovery ABGD (ACHAZ et al., 2011) foi realizada usando o site oficial do software (http://wwwabi.snv.jussieu.fr/public/abgd) utilizando os parâmetros de Achaz et al. (2011). A matriz contendo as mesmas sequências utilizadas nas análises de máxima verossimilhança foram anexadas no item *It can either be an already ALIGNED fasta file or a distance matrix.* Os parâmetros utilizados foram: *Pmin: 0,01; Pmax: 0.1; Steps:10; X: 0.8; Nb bins: 20; If you enter a fasta file you can select your distance: Jukes-Cantor (JC69).* O agrupamento das espécies foi escolhido a partir das análises filogenética e morfológicas e da curva do eixo X.

Para a análise do *Barcode Gap*, foram utilizados os seguintes softwares: Geneious® 9.0.5, Microsoft Excel e PAST versão 3.11.

O Geneious foi usado para gerar a matriz de distância (usando a distância p) e árvore associada (RUSSO et al., 2012). A matriz de sequências das espécies alinhada foi ordenada de acordo com os agrupamentos genéticos formandos pela análise de ABGD (ACHAZ et al., 2011). Para construir a árvore foi utilizada a função *Tree* e escolhido os seguintes parâmetros: Cost matrix: transition / transversion (5.0 / 1.0 / -4.0); Gap open penalty: 12; Gap extension penalty: 3; Alignment type: global alignment with free ends and gaps; Genetic distance model: Jukes-Cantor; tree build method: Neighbor-joining e outgroup: no outgroup. Posteriormente, a matriz de distância foi exportada, as distâncias intraespecíficas e interespecíficas foram separadas, e então os gráficos Jitter plot foram gerados usando o software PAST.

# 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram analisados morfologicamente 118 espécimes, provenientes de coletas realizadas para este trabalho e de revisão de herbários (FLOR, PACA, SP), provenientes de áreas da Amazônia, Cerrado, Caatinga e Mata Atlântica. Foram obtidas 70 sequências de 51 espécimes, das regiões ITS e LSU.

O tratamento taxonômico dos resultados, bem como a discussão serão apresentados no formato de artigo científico no Capítulo único.

# CÁPITULO ÚNICO – Análises moleculares (filogenéticas e de barcode) e morfológicas de *Panus* (Panaceae, Polyporales) no Brasil revelam três novas espécies da Mata Atlântica

#### Resumo

Panus é um gênero monofilético com aproximadamente 35 espécies descritas. Dessas, apenas nove têm registro de ocorrência no Brasil e menos ainda (Panus convivalis e P. parvus) foram descritas a partir de espécimes brasileiros. A grande maioria não foi testada por filogenia molecular. Baseadas em análises morfológicas, inclusive da revisão de espécimes de herbários, são propostas três novas espécies de Panus e uma nova combinação, Panus campinensis comb. nov. Análises moleculares (ITS, LSU e ITS + LSU) filogenéticas e de barcoding foram realizadas para testar as hipóteses morfológicas de espécies de Panus ocorrentes no Brasil. Morfologicamente Panus sp. nov. 1, caracteriza-se principalmente por porções nodulosas no estipe, seja na porção inicial ou central, e cistídios quase que totalmente imersos no himênio, que podem penetrar a porção inicial da trama da lamela. Panus sp. nov. 2 caracteriza-se por apresentar coloração branca a creme na superfície superior do píleo. basídios e estrututras estéries maiores que as demais espécies registradas para o Brasil. Panus. sp. nov. 3 apresenta basidiósporos maiores que a média para o gênero, com parede levemente espessa. Ainda, o status de P. strigellus é reavaliado a partir de análises filogenéticas e morfológicas e é aqui considerado em um sentido amplo, já que foi observado uma variação morfológica relevante entre os espécimes estudados. Neste trabalho, não é aceita a sinomização de P. fulvus em P. velutinus. Fotografias, ilustrações microscópicas, notas taxonômicas e discussão de cada espécie bem como uma chave de espécies de Panus com ocorrência no Brasil, são apresentadas.

**Palavras chave** – Região Neotropical. Fungos lentinoides. Sistemática molecular.

#### Introdução

*Panus* é o gênero tipo de Panaceae e caracteriza-se pela combinação de basidiomas infundibuliformes a ciatiformes, central a excentricamente estipitados, himenóforo lamelar, sistema hifal dimítico, basidiósporos elipsoides, lisos, presença de cistídios de parede fina e/ou de parede grossa, e trama irregular da lamela (Corner, 1981; Pegler, 1983). É composto por espécies saprófitas que causam podridão branca (Hibbett et al. 1993, Ejechi et al. 1996). O gênero apresenta aproximadamente 35 espécies, dentre essas, nove foram registradas para o Brasil [*P. ciliatus* (Lév.) T. W. May & A. E. Wood, *P. convivalis* Corner, *P. fulvus* (Berk.) Pegler & R. W. Rayner, *P. lecomtei* (Fr.) Corner, *P. parvus* Drechsler-Santos & Wartchow, *P. similis* (Berk. & Broome) T. W. May & A. E. Wood, *P. striguellus* (Berk.) Overh., *P. tephroleucus* (Mont.) T. W. May & A. E. Wood, *P. velutinus* (Fr.) Sacc.] (Gugliotta et al. 2015).

Embora Panus tenha ampla distribuição geográfica, são escassos os trabalhos que apresentam informações sobre suas espécies na região Neotropical (Rick, 1938; Pereira, 1988; Lechner et al. 2005, 2006; Bononi et al. 2008; Drechsler-Santos et al. 2012; Vargas-Isla et al. 2015). E com relação aos estudos no Brasil, os trabalhos realizados por Corner (1981) e Drechsler-Santos et al. (2012) são os únicos que apresentam descrição de espécies novas. Os autores realizaram estudos com espécies do gênero na Mata Atlântica e Caatinga, respectivamente. Corner (1981) descreve Panus convivalis Corner, contudo a espécie nunca foi recoletada e o espécime utilizado na descrição encontra-se no herbário Kew. Dreschler-Santos et al. (2012), por sua vez, descrevem Panus parvus Drechsler-Santos & Wartchow com base em morfologia. No trabalho os autores mencionam que a espécie por eles descrita, compartilha muitas características microscópicas com P. strigellus [comparando como P. rudis var. strigellus (Berk.) Singer], e informam que a principal característica que diferencia as duas espécies é a presença de escamas espiniformes espalhadas na superfície superior do píleo em P. parvus. O conceito morfológico de Panus parvus ainda não foi testado filogeneticamente, desta forma requer um estudo a partir de ferramentas moleculares para que seja corroborada hipótese de que se trate de uma espécie independente de P. strigellus.

Ainda, Drechsler-Santos et al. (2012) apresentam *Panus neostrigosus* Drechsler-Santos & Wartchow, como um nome novo para

*Lentinus strigosus* Fr. que posteriormente foi tratado por Vargas-Isla et al. (2015) como sinônimo de *Panus lecomtei* (Fr.) Corner, pois esse nome teria prioridade sobre o primeiro. No trabalho de Vargas-Isla et al. (2015), a partir de análises morfológicas, filogenéticas, e teste de compatibilidade os autores demonstram que *P. strigellus* é uma espécie independente, embora seja macrosocopicamente similar e com sobreposições de distribuição geográfica com *P. lecomtei*, o que levou os autores (e.g. Pilát 1935, Singer 1951a e 1986) a considerarem *P. strigellus* com uma variedade, *Pleurotus rudis* f. *strigellus* (Berk.) Pilát e *P. rudis* var. *strigellus*, de *P. lecomtei*.

Para entender melhor a distribuição das espécies e as relações infragenéricas de *Panus*, esse trabalho teve por objetivo coletar e revisar espécimes da região Neotropical de táxons que ainda não foram estudados, inclusive testar filogeneticamente hipóteses morfológicas de táxons conhecidos por sua ocorrência no Brasil.

#### Material e Métodos

#### Coletas e análise morfológicas

Espécimes de *Panus* foram coletados nos domínios fitogeográficos da Amazônia (Pará), área de transição caatinga e cerrado (Piauí), Caatinga (Pernambuco), Cerrado (Mato Grosso) e Mata Atlântica (Bahia, São Paulo, Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul). Os espécimes coletados foram depositados no Herbário FLOR. Também foram examinados materiais de referência depositados nos Herbários FLOR, PACA e SP-Fungi. Os acrônimos dos herbários estão de acordo com a base de dados Index Herbariorum (Thiers, continuamente atualizado).

Para descrição morfológica foram observados: píleo (dimensões, formato, superfície, cor, margem), himenóforo (cor, espaçamento das lamelas), estipe (dimensões, posição, formato, superfície e cor). As determinações das cores foram realizadas de acordo com o catálogo de Küppers (1979).

Para observação e descrição dos caracteres microscópicos estruturais foram realizados cortes a mão livre de secções transversais às lamelas para estudos do sistema hifal, presença ou ausência de elementos estéreis, basídios e basidiósporos, e de seções radiais do píleo e do estipe para observação da estipitepelis e pileipelis. O sistema hifal foi descrito a partir de Teixeira (1995). Os formatos de basídios, pleurocistídios e queilocistídios foi descrito a partir de Vellinga & Noordeloos et al. (2001).

O registro "[a / b / c]" no início de um conjunto de dados de basidiósporos deve ser lido como "*a* basidiósporos foram medidos a partir de *b* basidiomas retirados de coleções *c*". Os basidiósporos foram medidos em visão lateral, sempre 30 basidiósporos de cada basidioma, e os termos usado para descrever o formato dos basidiósporos segue Stalpers (1996) e a base de dados de *Resupinate Russulales* (http://www.cbs.knaw.nl/russulales/), que é baseada no Q, que representa o intervalo do quociente comprimento / largura para todos os esporos medidos; Q<sub>m</sub> representa a média de todos os valores de Q calculados para todos os basidiósporos medidos, enquanto que L<sub>m</sub> e W<sub>m</sub> representam, respectivamente a média de todos os comprimentos e de todas as larguras dos basidiósporos medidos.

As análises microscópicas foram feitas em reagente de Melzer, Hidróxido de Potássio a 3% (KOH), Floxina 1%, Azul de Cresil e Vermelho Congo, em combinação adequada ou separadamente. Para auxiliar na descrição dos tipos hifais foi utilizado NAOH 5%. A medida das estruturas (N= 30) foi realizada com auxílio de uma ocular com régua micrométrica acoplada ao microscópio óptico (Olympus CX22LED OM). Os valores obtidos, das estruturas microscópicas, foram planilhadas no Microsoft Excel para calcular média e desvio padrão na variação dos valores ( $\Delta s = 5\%$ ). Os desenhos das microestruturas foram feitos à mão livre a partir de imagens digitais dos materiais em estudo.

# Extração, amplificação, purificação e sequenciamento de DNA

Os procedimentos de extração, amplificação e purificação foram realizados no Laboratório de Biologia Molecular do Departamento de Botânica - UFSC. Os produtos da amplificação foram enviados para a empresa Myleus-Biotechnology de Belo Horizonte-MG.

A extração do DNA genômico total dos materiais coletados foi realizada de acordo com a metodologia proposta por Góes-Neto et al. (2005), utilizando o tampão CTAB 2% pré-aquecido. Os produtos de extração foram diluídos nas proporções de 1:10 e 1:50, que corresponde a uma parte de DNA total com Água MilliQ (água deionizada purificada em sistema Milli-Q (Millipore Corporation) autoclavada.
Para amplificação por reação de PCR, o mix foi preparado contendo 4 $\mu$ L de DNA diluído, 6  $\mu$ L de água Mili-Q ultra pura, 13  $\mu$ L de Master Mix (Promega) e 1  $\mu$ L de cada *primer* (10pmol/L).

Para amplificação (reações de PCR), as regiões-alvo escolhidas foram ITS e LSU do DNA. Para as regiões ITS1–5.8S–ITS2 os *primers* empregados no procedimento foram ITS1 e ITS4 (White et al. 1990). Para a região LSU foram utilizados os *primers* LR0R e LR5 (Vilgalys & Hester 1990).

Os produtos de amplificação foram purificados de acordo com protocolo com Polietilenoglicol (PEG; Sambrook et al. 1989) a 20% para eliminação de possíveis impurezas e reagentes, e posteriormente sequenciados através do método Sanger em sequenciador automático.

## Alinhamento das sequências e análises filogenéticas

Os cromatogramas gerados foram vistoriados e editados manualmente no *software* Geneious versão 9.0.5 (Kearse et al. 2012). A presença de ambiguidades indicando posições heterozigotas, foram anotadas de acordo com o código do *International Union of Pure and Applied chemistry* (IUPAC). As sequências geradas durante a realização da pesquisa e de táxons relacionados depositadas em repositórios (Tabela I) foram agrupadas de acordo com o marcador utilizado e alinhadas no MAFFT v.7 (Katoh 2013), o alinhamento foi posteriormente editado manualmente através do *software* MEGA v.7 (Kumar et al. 2016). Regiões de alinhamento ambíguo do ITS1 e ITS2 foram removidas com o programa Gblock 0.91b (Castresana, 2000; Dereeper et al. 2008).

Para a análise filogenética, foi montado uma matriz individual para cada marcador, com as sequências obtidas pela pesquisa e aquelas disponibilizadas no banco de dados do GenBank (ncbi.nlm.nih.gov/genbank/, Benson et al., 2005) (Tabela I).

Para a construção e análise das árvores filogenéticas a partir das sequências alinhadas, foram utilizados os métodos de Máxima Verossimilhança (ML) com 1.000 pseudoreplicações (*bootstrap*), utilizando o programa RAxML versão 8.2.10 (Stamatakis 2014) e Inferência Bayesiana (IB) utilizando o Mr. Bayes v. 3.2.6 (Ronquist et al. 2012). O modelo de evolução molecular mais adequado aos dados foi obtido através do programa jModelTest2 v.2. 1.6 usando o AIC (*Akaike Information Criterion*) (GASCUEL, GUINDON, 2003; DARRIBA et al.,

2012). Os programas foram utilizados pela plataforma CIPRES (https://www.phylo.org/ Miller et al. 2010).

A análise de ML envolveu 100 buscas, cada uma a partir de uma árvore de parcimônia de adição passo a passo aleatória, sob o modelo GTRGAMMA, sem proporção de sites invariantes e todos os outros parâmetros estimados pelo *software*.

Após obtenção das topologias finais de ML e IB, suas congruências foram avaliadas visualmente, sendo considerados incongruentes apenas clados com configuração diferente que apresentassem suporte significativo, e em todos os casos a topologia de ML foi selecionada, e os valores de IB foram anotados. A configuração gráfica da árvore, quanto a rotação e disposição dos táxons na topologia, foi primeiro realizada no programa FigTree® v1.4.0. As árvores posteriormente foram salvas em formato PDF, e editadas graficamente no CorelDraw®.

Ao final do trabalho todas as sequências obtidas foram depositadas no GenBank.

Tabela I. Espécies, coleções e sequências utilizados nos estudos filogenéticos e seus números de acesso no Genbank. (\*) Representa as novas sequencias geradas nesse estudo.

|                     | Número de acesso no |                |          |          |                        |
|---------------------|---------------------|----------------|----------|----------|------------------------|
| Espécies de fungos  | Voucher/Strain      | País de origem | Genbank  |          | Referência             |
|                     |                     |                | ITS      | LSU      |                        |
| Cerrena unicolor    | FD-299              | EUA            | KP135304 | KP135209 | Justo et al. 2017      |
| Cerrena unicolor    | Gothenburg lab no   | SUÉCIA         | JN710525 | JN710663 | Miettinen et al. 2011  |
|                     | 3115                |                |          |          |                        |
| Cymatoderma sp.     | OMC1427             | USA            | KY948872 | KY948872 | Justo et al. 2017      |
| Cymatoderma         | LR37567 (O)         | VENEZUELA      | JN649336 | JN649336 | Sjökvist et al. 2012   |
| caperatum           |                     |                |          |          |                        |
| Cyamatoderma        | HHB-9974-sp         | -              | AF518612 | AF518612 | Hibbett e Binder, 2002 |
| caperatum           |                     |                |          |          |                        |
| Cymatoderma         | Delgado300697       | COSTA RICA     | JN649337 | JN649337 | Sjökvist et al. 2012   |
| dendriticum         |                     |                |          |          |                        |
| Cymatoderma         | CBS 615.73          | SRI LANKA      | JN649338 | JN649338 | Sjökvist et al. 2012   |
| dendriticum         |                     |                |          |          |                        |
| Cymatoderma elegans | CBS 491.76 (GB)     | JAPÃO          | JN649340 | JN649340 | Sjökvist et al. 2012   |
| Cymatoderma elegans | Halling9064         | AUTRÁLIA       | JN649341 | JN649341 | Sjökvist et al. 2012   |
| Panus sp.           | M2028-7-P30         | PANAMÁ         | JQ922124 | -        | Bolanos et al. 2012    |
| Panus sp.           | MEL:2382967         | AUSTRÁLIA      | KP012827 | -        | Bonito et al. 2014     |
| Panus sp.           | MEL:2382698         | AUSTRÁLIA      | KP012877 | -        | Bonito et al. 2014     |
| Panus sp.           | G028                | CHINA          | KJ195662 | -        | Chen et al. 2014       |
| Panus sp.           | GAS850              | BRASIL, RS     | *        | *        |                        |
| Panus sp.           | GAS851              | BRASIL, RS     |          | *        |                        |
| Panus sp.           | CATO176             | BRASIL, SC     | *        | *        |                        |

|                    |                | Número de acesso no |          |          |                        |  |
|--------------------|----------------|---------------------|----------|----------|------------------------|--|
| Espécies de fungos | Voucher/Strain | País de origem      | Genbank  |          | Referência             |  |
|                    |                |                     | ITS      | LSU      |                        |  |
| Panus sp.          | DG06           | BRASIL, SC          | *        | *        |                        |  |
| Panus sp.          | DS841          | BRASIL, SC          |          | *        |                        |  |
| Panus sp.          | DS842          | BRASIL, SC          |          | *        |                        |  |
| Panus sp.          | MIBF205        | BRASIL, SC          | *        |          |                        |  |
| Panus sp.          | MIBF206        | BRASIL, SC          | *        |          |                        |  |
| Panus sp.          | VOG93          | BRASIL, RS          |          | *        |                        |  |
| Panus sp.          | DG25           | BRASIL, SC          | *        | *        |                        |  |
| Panus sp.          | DS1125         | BRASIL, SC          | *        | *        |                        |  |
| Panus ciliatus     | FB11755        | USA                 | -        | AY616008 | Grand, 2004            |  |
| Panus ciliatus     | TENN59785      | TAILÂNDIA           | -        | AY616006 | Grand, 2004            |  |
| Panus ciliatus     | TENN59786      | TAILÂNDIA           | -        | AY616007 | Grand, 2004            |  |
| Panus ciliatus     | SP446150       | BRASIL, PA          | *        | *        |                        |  |
| Panus conchatus    | LE165028       | RUSSIA              | KM411463 | -        | Zmitrovich             |  |
| Panus conchatus    | Otto Miettinen | FINLANDIA           | JN710579 | JN710579 | Miettinen et al. 2011  |  |
|                    | X1234          |                     |          |          |                        |  |
| Panus conchatus    | TENN52912      | MÉXICO              | -        | AY616004 | Grand, 2004            |  |
| Panus conchatus    | TENN50394      | SUIÇA               | -        | AY616003 | Grand, 2004            |  |
| Panus conchatus    | JMH44          | -                   | -        | KM267737 | Grand, 2004            |  |
| Panus fasciatus    | DMC184         | -                   | -        | EU908180 | Douanla-Meli & Langer, |  |
|                    |                |                     |          |          | 2010                   |  |
| Panus fulvus       | LCF573         | ARGENTINA           | -        | AY615997 | Grand, 2004            |  |
| Panus fulvus       | TENN58776      | USA                 | -        | AY615996 | Grand, 2004            |  |
| Panus fulvus       | DS1598         | BRASIL, PA          | *        | *        |                        |  |
| Panus fulvus       | DS1684         | BRASIL, PA          | *        | *        |                        |  |

|                    |                |                | Número de acesso no |          | Referência              |
|--------------------|----------------|----------------|---------------------|----------|-------------------------|
| Espécies de fungos | Voucher/Strain | País de origem | Genbank             |          |                         |
|                    |                |                | ITS                 | LSU      |                         |
| Panus fulvus       | DS1687         | BRASIL, PA     | *                   | *        |                         |
| Panus fulvus       | DS1689         | BRASIL, PA     | *                   | *        |                         |
| Panus fulvus       | DHCR213        | BRASIL, MT     | *                   | *        |                         |
| Panus fulvus       | EC082          | BRASIL, MT     |                     | *        |                         |
| Panus fulvus       | SP446159       | BRASIL, PR     |                     | *        |                         |
| Panus fulvus       | VOG36          | BRASIL, RS     | *                   | *        |                         |
| Panus fulvus       | VOG38          | BRASIL, RS     | *                   |          |                         |
| Panus fulvus       | VOG40          | BRASIL, RS     | *                   |          |                         |
| Panus fulvus       | VOG48          | BRASIL, RS     | *                   |          |                         |
| Panus fulvus       | VOG51          | BRASIL, RS     | *                   |          |                         |
| Panus lecomtei     | Ap7            | INDIA          | KR824079            | -        |                         |
| Panus lecomtei     | TENN51805      | USA            | -                   | AY615994 | Grand, 2004             |
| Panus lecomtei     | INPACA1466     | BRASIL         | JQ955730            | JQ955730 | Vargas-Isla et al. 2012 |
| Panus lecomtei     | HHB-11042-sp   | USA            | -                   | KP135233 | Floudas & Hibbett, 2015 |
| Panus lecomtei     | TMIC35103      | JAPÃO          | JQ955733            | JQ955733 | Vargas-Isla et al. 2015 |
| Panus parvus       |                | BRASIL, PE     | *                   | *        | -                       |
| (holótipo)         |                |                |                     |          |                         |
| Panus rudis        | DSH-92-139     | -              | -                   | AF287878 | Hibbett et al. 2000     |
| Panus rudis        | ZJ1005DKJ04    | -              | KU863051            | -        | Tang et al. 2016        |
| Panus rudis        | ZJ1005DKJ01    | -              | KU863048            | -        | Tang et al. 2016        |
| Panus similis      | DMC 189        | -              | -                   | EU908182 | Douanla-Meli & Langer,  |
|                    |                |                |                     |          | 2010                    |
| Panus similis      | TENN58995      | ARGENTINA      | -                   | AY615998 | Grand, 2004             |
| Panus similis      | TENN59008      | ARGENTINA      | -                   | AY616000 | Grand, 2004             |

|                    |                | Número de acesso no |          |          |   |  |
|--------------------|----------------|---------------------|----------|----------|---|--|
| Espécies de fungos | Voucher/Strain | País de origem      | Genbank  |          | Referência                              |  |
|                    |                |                     | ITS      | LSU      |   |  |
| Panus similis      | TENN59829      | ARGENTINA           | -        | AY615999 | Grand, 2004                             |  |
| Panus similis      | UOC SIGWI S38  | SRI LANKA           | KR818820 | -        | Ediriweera et al. 2015                  |  |
| Panus similis      | DG11           | BRASIL, SC          | *        | *        |   |  |
| Panus similis      | EC072          | BRASIL, SP          |          | *        |   |  |
| Panus similis      | MAR1154        | BRASIL, SP          | *        | *        |   |  |
| Panus similis      | SGE238         | BRASIL, SP          | *        | *        |   |  |
| Panus similis      | SP446152       | BRASIL, SP          |          | *        |   |  |
| Panus strigellus   | INPA222827     | BRASIL, AM          | JQ955722 | JQ955729 | Vargas-Isa et al. 2012                  |  |
| Panus strigellus   | INPA239979     | BRASIL, AM          | JQ955724 | JQ955731 | Vargas-Isla et al. 2012                 |  |
| Panus strigellus   | INPA243940     | BRASIL, AM          | JQ955727 | JQ955732 | Vargas-Isla et al. 2012                 |  |
| Panus strigellus   | TENN56192      | USA                 | JQ955727 | AY616002 | Vargas-Isla et al. 2012/<br>Grand, 2004 |  |
| Panus strigellus   | DG12           | BRASIL, SC          |          | *        |   |  |
| Panus strigellus   | DG13           | BRASIL, SC          |          | *        |   |  |
| Panus strigellus   | DG14           | BRASIL, SC          |          | *        |   |  |
| Panus strigellus   | DG16           | BRASIL, SC          |          | *        |   |  |
| Panus strigellus   | DG19           | BRASIL, SC          |          | *        |   |  |
| Panus strigellus   | DG21           | BRASIL, SC          |          | *        |   |  |
| Panus strigellus   | DG23           | BRASIL, SC          |          | *        |   |  |
| Panus strigellus   | DG24           | BRASIL, SC          |          | *        |   |  |
| Panus strigellus   | DG27           | BRASIL, SC          |          | *        |   |  |
| Panus strigellus   | DG28           | BRASIL, SC          |          | *        |   |  |
| Panus strigellus   | DG31           | BRASIL, SC          |          | *        |   |  |
| Panus strigellus   | DG33           | BRASIL, SC          |          | *        |   |  |

| Espécies de fungos               | Voucher/Strain | País de origem | Número de acesso no<br>Genbank |          | Referência                     |  |
|----------------------------------|----------------|----------------|--------------------------------|----------|--------------------------------|--|
|                                  |                |                | ITS                            | LSU      |                                |  |
| Panus strigellus                 | DG36           | BRASIL, SC     | *                              | *        |                                |  |
| Panus strigellus                 | DG38           | BRASIL, SC     |                                | *        |                                |  |
| Panus strigellus                 | DG66           | BRASIL, PI     |                                | *        |                                |  |
| Panus strigellus                 | DS584          | BRASIL, SC     |                                | *        |                                |  |
| Panus strigellus                 | DS1872         | BRASIL, SC     | *                              |          |                                |  |
| Panus strigellus                 | PVN03          | BRASIL, SC     | *                              |          |                                |  |
| Panus strigellus                 | PVN04          | BRASIL, SC     | *                              |          |                                |  |
| Panus velutinus                  | DMC683         | ARGENTINA      | -                              | EU908185 | Douanla-Meli & Langer, 2010    |  |
| Panus velutinus                  | DMC734b        | ARGENTINA      | -                              | EU908186 | Douanla-Meli & Langer,<br>2010 |  |
| Panus velutinus                  | NAL318         | ARGENTINA      | -                              | GQ487335 | Douanla-Meli & Langer,<br>2010 |  |
| Panus velutinus                  | VOG 30         | BRASIL, RS     | *                              | *        |                                |  |
| Panus velutinus                  | CM10           | BRASIL, PR     | *                              |          |                                |  |
| Panus velutinus                  | VKRA1          | INDIA          | KT722841                       | -        | Kumar et al. 2015              |  |
| Panus velutinus var.<br>glabrior | DMC176         | -              | -                              | EU908183 | Douanla-Meli & Langer, 2010    |  |
| Steccherinum sp.                 | FD-26          | USA            | -                              | KP135289 | Floudas & Hibbett, 2015        |  |
| Steccherinum nitidum             | FP-105195-Sp   | USA            | -                              | KP135227 | Floudas & Hibbett, 2015        |  |
| Rigidoporus vinctus              | ECS-194-R      | TANSANIA       | -                              | KY948873 | Justo et al. 2017              |  |

### Análises moleculares de delimitação de espécies

A análise de *Poisson Tree Processes* PTP (ZHANG et al, 2013) foi realizada a partir da análise final de Máxima Verossimilhança, através da plataforma *The Exelixis Lab*, com os parâmetros propostos por Zhang et al., 2013.

A análise de *Automatic Barcode Gap Discovery* ABGD (ACHAZ et al., 2011) foi realizada usando o site oficial de software http://wwwabi.snv.jussieu.fr/public/abgd/ utilizando os parâmetros de Achaz et al. (2011). O agrupamento das espécies foi escolhido a partir das análises filogenética e morfológicas e da curva do eixo X.

Para a análise do *Barcode Gap* pelo método tradicional, foram utilizados os seguintes softwares: Geneious® 9.0.5, Microsoft Excel e PAST versão 3.11.

O Geneious foi utilizado para gerar a matriz de distância (usando p distância) e árvore associada ((RUSSO et al., 2012). A matriz de sequências das espécies alinhada foi ordenada de acordo com os agrupamentos genéticos formandos pela análise de ABGD (ACHAZ et al., 2011). Posteriormente, a matriz de distância foi exportada, as distâncias intraespecíficas e interespecíficas foram separadas, e então os gráficos Jitter plot foram gerados usando o software PAST.

#### Resultados e Discussão

Um total de 70 sequências (29 ITS e 41 LSU) foram gerados neste estudo, sendo essas 29 da região rDNA ITS (*Ribossomal* DNA *Internal Trasncribed Spacer*) e 41 sequências da região nucLSU (*nuclear Large Subunit*). Todas as sequências são de amostra previamente determinados como *Panus*.

## Filogenias moleculares

Com base nos dados de ITS e LSU foram geradas duas matrizes, uma com a análise combinada (ITS + LSU) e a outra apenas com sequências do marcador ITS Essa última é apresentada juntamente com as análises comparativas de ABDG e PTP. O dois filogramas incluem grupos relacionados a *Panus*, como *Cymatoderma*, e outros clados de gêneros proximamente relacionados como *Rigidoporus* Murril e *Cerrena* Gray, oriundas do banco de dados GenBank, tendo como grupo externo *Steccherinum nitidum* (Pers.) Vestersh. A matriz utilizada para gerar a árvore filogenética combinada (Figura 1) a partir dos marcadores ITS e LSU apresenta 1156 caracteres, 773 de LSU e 383 de ITS, com 272pb posições variáveis, 183pb parcimônio-informativos e 884pb conservadas tendo como objetivo confirmar o posicionamento dos espécimes de *Panus* coletadas para este estudo.

Figura 1. Reconstrução filogenética de membros do gênro *Panus* inferidas a partir dos marcadores ITS e LSU. A topologia é da análise de máxima verossimilhança. Os valores de sustentação do *Bootstrap* (antes dos marcadores de barra) e Probabilidade Posterior (depois dos marcadores de barra) são indicados próximo aos nós dos ramos. Os valores de sustentação abaixo de 70% de *bootstrap* não são indicados nos ramos. Nomes em negrito são as sequências oriundas deste trabalho.



46

Dentre o conjunto de análises, foram realizadas análises de Máxima Verossimilhança e Inferência Bayesiana. Apenas a topologia de ML é exibida, porém os suportes de IB são apontados nos ramos. A topologia de IB e ML da análise não mostrou nenhuma inconsistência nos ramos terminais. O melhor modelo evolutivo estimado usando o AIC para ITS foi TIM2+G e para LSU TMI2+I+G. São representados nesta reconstrução filogenética 17 agrupamentos pertencentes a *Panus, Cymatoderma, Cerrena e Rigidoporus*.

Nesta análise Panaceae (*Panus* e *Cymatoderma*) teve sustentação forte (BS=87 / PP=1). Todos os espécimes coletados para este estudo e previamente determinados como *Panus*, ficaram posicionadas no gênero. Nesta filogenia, *Panus* formou três grandes agrupamentos, o primeiro possui espécimes de *P. lecomtei* e *P. ciliatus*, proximamente relacionados. O segundo agrupamento inclui espécies de *Panus velutinus*, *P. fulvus* s. I., *P. similis*, *Panus* sp. nov. 1, *P. conchatus* e *Panus*. sp. nov. 2. *Panus* sp. nov 1. e *Panus* sp. nov. 1 está mais proximante relacionado a *P. similis*, bem como *P. velutinus* a *P. fulvus* s. 1. No terceiro e último agrupamento há somente sequências de espécimes de *P. strigellus* s. 1. (BS=95 / PP=0,99) oriundas da America do Sul e América do Norte.

A matriz utilizada para gerar a árvore filogenética a partir dos marcadores ITS (Figura 2) contém 57 sequências com 200pb com posições variáveis, 139 parcimônio-informativos e 236pb conservadas e tem como objetivo de testar hipóteses morfológicas e confirmar o posicionamento das espécies em *Panus*.

Figura 2. Reconstrução filogenética de membros do gênero *Panus* inferidas a partir do marcador ITS, juntamente com as análises de ABGD e PTP. A topologia é da análise de máxima verossimilhança. Os valores de sustentação do *Bootstrap* (antes dos marcadores de barra) e Probabilidade Posterior (depois dos marcadores de barra) são indicados. Os valores de sustentação abaixo de 70% *bootstrap* não são indicados nos ramos. Nomes em negrito são sequências oriundas deste trabalho.



Dentre as análises realizadas apenas a topologia de ML é exibida, porém os suportes de IB são apontados nos ramos. A topologia de IB e ML da análise não mostrou nenhuma inconsistência nos ramos terminais. O melhor modelo evolutivo estimado usando o AIC para ITS foi TMI2+I+G. São representados nesta reconstrução filogenética 18 espécies pertencentes a *Panus, Cymatoderma, Cerrena e Rigidoporus*.

A relação entre as espécies apresentada (Figura 2) diverge em alguns pontos, em comparação ao filograma anterior (figura 1). Além disso, nesta análise há inclusão de mais espécimes nos clados devido a disponibilidade de mais sequências com esse marcador. *Panus* formou dois grandes agrupamentos, o primero possui *Panus* sp. nov. 1, *P. similis, P. fulvus* s. 1., *Panus* sp. (Austrália) e *Panus velutinus*. No segundo agrupamento encontram-se clados nomeados como *Panus ciliatus, P. lecomtei* sensu Vargas-Isla et al. (2015), *P. conchatus, P. strigellus* s. 1. e *Panus* sp. nov. 2. *Panus* sp. nov 1 mantêm-se com o valor máximo de sustentação (BS=100 / PP=1), bem como *Panus* sp. nov. 2, corroborando com o filograma da filogenia combinada, mantêm-se também, a proximidade na relação entre *Panus* sp. nov. 1 e *P. similis. Panus strigellus* encontra-se aqui, relacionda a *Panus* sp. nov. 1.

Neste estudo é possível observar que o clado que compreende Panaceae (*Panus* e *Cymatoderma*) teve sustentação nas duas análises, mostrando *Panus* como grupo irmão de *Cymatoderma*, o que corrobora a proposta de Justo et al. (2017). Todas os espécimes coletados para este estudo ficaram dispostos em *Panus*, onde foi possível não só confirmar o posicionamento das espécies já descritas para o gênero, mas duas linhagens correspondentes a espécies novas, *Panus* sp. nov. 1 e *Panus* sp. nov. 2, ambas oriundas da Mata Atlântica da região sul do Brasil.

O clado nomeado como *Panus lecomtei* sensu Vargas- Isla et al. (2015) (ITS: BS=85/ PP=1; concatenada: BS=99 / PP=1) apresenta sequências oriundas de trabalhos já publicados (*e. g.* Hibbett et al. 2000; Grand, 2004; Floudas & Hibbett, 2015; Vargas-Isla et al. 2015; Tang et al. 2016). O clado aqui, é nomeado *sensu* Vargas- Isla et al. (2015) pelo simples fato de que os autores recentemente realizaram estudo de delimitação de *P. lecomtei*.

O clado correspondente a *Panus ciliatus* (ITS: BS=100/PP=1; concatenada: PP=1) fica proximamente relacionado ao clado *P. lecomtei* sensu Vargas-Isla et al. (2015), corroborando o trabalho de Vargas-Isla et al. (2015) e agrupa dois espécimes que são geograficamente de regiões bem distintas, Brasil e China.

O clado denominado *Panus velutinus* (ITS: BS=95/ PP=0,78; concatenada: BS=50/PP=1) inclui dois espécimes CM10 E VOG 30, que apresentam estipe bem alongado, esguio e com pseudoesclerócio. O grande número de sinônimos heterotípicos (24 sinônimos), sugere que este táxon possa se tratar de um complexo de espécies, como mencionado por Pegler (1983). Desta forma, tonar-se necessário a inclusão de mais espécimes na filogenia para testar essa hipótese. Já que foi utilizada essa literatura para identificação morfológica dos espécimes estudados.

O clado que corresponde a *Panus fulvus* (ITS: BS=87/ PP=0,84; concatenada: BS=91 / PP=0,99) inlcui os espécimes DHCR213, DS1598, DS1684, DS1687, SP446159, VOG36, VOG38, VOG40, VOG48 e VOG51. A análise de ABGD separou o clado em duas espécies, uma que corresponderia aos espécimes da Mata Atlântica (SP446159, VOG36, VOG38, VOG40, VOG48 e VOG51) e do Cerrado matogrossense (DHCR213). A outra apresenta os espécimes da Amazônia (DS1598, DS1684 e DS1687). Contudo, não foi obervado diferenças morfológicas significativas que corroborasse a separa dos espécimes. A análise de PTP considerou os materiais como sendo da mesma espécie.

O clado reconhecido como *Panus similis* (ITS: BS=95/ PP=0,97; concatenada: BS=98 / PP=1) reúne os espécimes DG11, SGE138, MAR1154 com morfologia bem característica da espécie e mantêm-se proximamente relacionado ao clado de *Panus* sp. nov 1 nos dois filogramas apresentados.

O clado nomeado como Panus sp. nov. 1(ITS: BS=100/ PP=1; concatenada: BS=99 / PP=1) reúne os espécimes CATO176, DG06, GAS850, GAS 851, MIBF20515- JP0048 e MIBF206105-PBP002, que não se agrupam com nenhuma sequência disponível nos bancos de dados, embora se mantenha proximamente relacionado ao clado correspondete a Panus similis. As características microscópicas dos espécimes deste clado se assemelham as de P. fulvus, P. campinensis e P. velutinus, sendo a principal diferenca presente na macromorfologia, cujo esipe apresenta porções nodulosas. Artigos que tratam taxonomicamente de espécies do grupo (e.g. Drechsler-Santos et al. 2012, Njouonkou et al. 2013) não trazem informações de materiais com essa característica. Dessa forma, potencialmente representando uma novidade científica. A Análise de ABGD considerou o espécime MIBF206105-PBP002 distinto dos demais espécimes do clado, contudo, não foi observada nenhuma diferença morfológica com os demais materiais que pudesse dar indícios de se tratar de uma espécie distinta. A análise PTP corrobora os filogramas considerando que se tratrem de uma mesma espécie.

*Panus conchatus* (Bull.) Fr., espécie tipo de *Panus*, ficou posicionada de forma distinta nas análises filogenéticas. No filograma de ITS (Figura 2) o clado (BS=100/ PP=1) mantêm-se proximamente relacionado aos clados de *P. strigellus* e *Panus*. sp. nov. 2. Na filogenia concatenada (Figura 1) essa relação próxima se dá com o clado que se subdivide em *Panus* sp. nov. 1, *P. fulvus*, *P. similis* e *P. velutinus*.

As sequências de DG25 e DS1151 agrupam-se em um mesmo clado (*Panus* sp. nov. 2) nas análises com valor máximo de sustentação (ITS: BS=100/ PP=1; concatenada: BS=100/ PP=1). Os espécimes apresentam uma morfologia distinta das demais espécies de *Panus* já descritas. Além disso, não agrupam com nenhuma sequência disponível nos bancos de dados, dando indícios de se tratar de uma novidade científica.

O ramo que compreende espécimes previamente determinados como *Panus strigellus* e do holótipo de *P. parvus* (ITS: BS=83; concatenada: BS=0,99/ PP=1) encontra-se em uma politomia. Espécimes de *P. strigellus* do Panamá e EUA (ITS: BS=72/ PP=1) ficaram proximamente relacionados aos espécimes do Brasil (Amazônia, Caatinga e Mata Atlântica). Ambos os filogramas e análise de ABGD mostram que o ramo compreende mais de uma espécie, mas o PTP considera como sendo a mesma espécie. Contudo, pela existência da politomia, pela divergência entre as análises e pela variação morfologicamente existente entre os espécimes presentes, neste trabalho *P. strigellus* (mais *P. parvus*) foi considerado em um sentido amplo, *P. strigellus* s. 1. Estudos futuros, a partir de biologia molecular e morfologia, deverão ser realizados de modo mais inclusivo, a partir de outros marcadores moleculares e mais espécimes para que seja possível entender as relações filogenéticas entre os espécimes deste clado.

## Delimitação molecular de espécies

A análise de *Barcode gap* confirmou a existência de um *gap* (Figura 3) entre os dois intervalos do conjunto de dados da variabilidade genética (intraespecíficos e interespecíficos), constatadas pelas análises filogenéticas (Figura 1 e 2), contudo não corrobora totalmente as análises de PTP.

Essa análise compara todos os táxons existentes na matriz de sequência através dos pares de bases das sequências de DNA, assim há uma variação entre essas sequências que está na matriz de distância. Quando a sequência de um táxon é comparada com ela mesma sua

variação é zero, já quando comparada com outras de outros táxons esse valor varia conforme a diferença entre os pares de bases. Cada ponto no gráfico é uma comparação entre sequências, sendo a primeira coluna a intraespecífica e a segunda coluna a interespecífica. A variação intraespecífica é pequena (0–1%), isto é, há uma moderada variação nas distâncias genéticas entre espécimes distintos dentro de um mesmo grupo, enquanto que pode haver uma elevada variação interespecífica entre os grupos 2–16% enquanto o *gap* varia de 1–2%.

Figura 3. Análise de *Barcode gap* das espécies filogenéticas de *Panus* com base nas distâncias intespecíficas e intraespecíficas da região ITS. Cada ponto emparelhado representa um par de comparações. Todas as comparações intraespecíficas são traçadas na coluna "A" e todas as interespecíficas são plotadas na coluna "B" do eixo X. As distâncias genéticas são traçadas no eixo Y.



As análises de PTP e ABGD estão presentes na figura 2. Na coluna da direita os grupos moleculares propostos e aceitos pela análise de PTP, corroborando com os agrupamentos filogenéticos. A coluna da esquerda é composta pelos grupos moleculares propostos e aceitos pela análise de ABGD, estes não corroboram totalmente os agrupamentos filogenéticos.

A análise de PTP, a partir da topologia do filograma de máxima verossimilhança, forneceu alguns agrupamentos de espécies, o melhor agrupamento foi escolhido através do maior valor de sustentação destes grupos e com base na filogenia e morfologia dos grupos.

A análise ABGD dividiu o conjunto de dados (47 sequências de *Panus* spp.) e forneceu agrupamentos contendo de 12 a 16 espécies. A

partição recursiva entre os valores "p" 0,0010 a 0,0017 considera 16 grupos, 0,0028 considera 14 grupos, e 0,0046 a 0,0077 considera 12 grupos (figura 4). O melhor agrupamento foi escolhido através da curva dos pontos e de acordo com a filogenia e morfologia dos grupos.

Figura 4. Gráfico mostrando a relação entre a divergência intraespecífica prévia (p) e o número de grupos na partição inicial e partição recursiva.



# Taxonomia

*Panus ciliatus* (Lév.) T. W. May & A. E. Wood, *Mycotaxon* 54: 148. (1995) (Figura 5)

Píleo 44-55 mm diâm., infundibiliforme, marrom (N<sub>60</sub>A<sub>50</sub>M<sub>40</sub>) quando fresco e mais escuro quando desidratado (N<sub>60</sub>A<sub>60</sub>M<sub>50</sub>), radialmente estriado, com pêlos em toda superfície, margem involuta e pilosa. Lamelas decurrentes, marrom a levemente rosadas quando frescas, marrom claras a vináceas (N<sub>50</sub>A<sub>30</sub>M<sub>50</sub>) quando desidratas, numerosas, com lamélulas, margem lisa. Estipe central 20-25 × 5.0-6.0 mm, superfície velutina, marrom, concolor\_com a superfície do píleo quando desidratado, cilíndrico achatado, levemente alargado em direção ao ápice. Sistema hifal dimítico: hifas generativas 2.0-4.0 µm diâm., hialinas, fibuladas, ramificadas, de parede fina, com lúmen continuo; hifas esqueletais 2.5-4.5 µm diâm., hialinas, de parede espessada, ocasionalmente com ramificações laterais, IKI-. Basidiósporos [30/1/1]  $5.5-7.0 \times 2.5-3.5 \mu m$  (O<sub>m</sub>=1.94 µm; O= 1.7-2.2 µm; L<sub>m</sub>= 6.0 µm; W<sub>m</sub>= 3.0 µm) elipsoides a cilíndricos, hialinos, de parede fina, lisa, raramente gutulados, inamiloides. Basídios 18-24 × 4.5-5.5 µm, cilíndrico-clavado, hialinos, de parede fina, tetraesporados, com base fibulada. *Pleurocistídios*  $24-36 \times 5.0-8.0 \,\mu\text{m}$ , clavados, lisos, de parede levemente espessada (1.0-2.0 µm de espessura), sem conteúdo citoplasmático. *Oueilocistídios* 24-34 ×5.5-10 µm, clavados a fusoide, lisos, de parede fina. Pileipelis em formato de epicutes. Trama da lamela irregular. *Material examinado:* Brasil, Pará: Área de proteção ambiental da Ilha do Combu, propriedade do Seu Rui, Município de Belém (13°01'80"S, 48°27'46"W, alt: 16 m), 20.II.2011, Karstedt, F., FK1890 (SP446150).

*Distribuição geográfica:* predominantemente Pantropical, mas há registro da espécie na Ocenia e no ocidente. No Brasil o táxon apresenta distribuição para o domínio fitogeográfico da Amazônia e Mata Atlântica (Rick, 1938; Putzke, 1994).

*Habitat:* Solitário, raramente gregário pode ou não apresentar pseudoesclerócio. Crescendo sobre troncos mortos caídos.

*Comentários: Panus ciliatus* é caracterizado principalmente por suas lamelas densas de coloração vinácea e estreitas, e píleo radialmente estriado. Difere de *P. fulvus* por ser relativamente menor e pelo formato dos queilocistídios (clavados a fusoides *versus* flexuosos). O material examinado neste trabalho apresenta lamelas estreitas densas e basídios

relativamente maiores ao que está descrito por Pegler (1983). A espécie foi descrita por Léveillé em 1844 como *Lentinus ciliatus* a partir de espécimes coletado na Suécia. O primeiro registro da espécie aqui no Brasil foi feito por Rick (1938).

Trabalhos futuros com mais espécimes e incluindo da localidade do tipo são requeridos para corroborar que se trata de uma espécie com ampla distribuição geográfica ou que se trata de um complexo de espécies. Figura 5. *Panus ciliatus* **a.** vista geral do basidioma fresco. **b.** detalhe da superfície superior do píleo. **c.** detalhes do himenóforo. **d.** vista geral do basidioma desidratado. Barra de escala =1 cm. e. hifas generativas, escala: 5  $\mu$ m. **f.** basidiósporos, escala: 5  $\mu$ m. **g.** basídios. **h.** pleurocistídios. i. queilocistídios. Barra de escala =10  $\mu$ m. Fonte das fotos: Fernanda Kasterdt.



### Panus fulvus (Berk.) Pegler & R.W. Rayner (Figura 6 e 7)

*Píleo* 18–32 mm diâm., infundibiliforme, marrom escuro ( $N_{90}Y_{70}M_{60}$ ) na margem e bege ( $N_{30}Y_{50}M_{20}$ ) no centro quando desidratado, estriadosulcado, hirsuto a tomentoso na margem tornando-se glabrescente no centro, margem involuta e pilosa. *Lamelas* decurrentes, bege ( $N_{40}Y_{70}M_{60}$ ) quando desidratadas, fechadas com lamélulas, bifurcada, margem inteira. *Estipe* central a excêntrico 30–55 × 2.0–6.0 mm, superfície vilosa e tomentosa da base ao ápice, marrom, concolor com a superfície pilear, cilíndrico a flexuoso, levemente alargado em direção ao ápice e à base.

Sistema hifal dimítico: *hifas generativas* 2.5–4.5 µm diâm., hialinas, fibuladas, de parede fina, lúmen contínuo; *hifas esqueletais* 2.0–5.5 µm diâm., de parede espessa. *Basidiósporos* [30/1/1] 5.0–7.5 × 3.1–4.3 ( $Q_m$ =1.75 µm; Q=1.4–2.0 µm; L<sub>m</sub>= 6.25 µm; W<sub>m</sub>= 3.75 µm), elipsoide a cilíndrico, hialinos, de parede fina, lisa, raramente gutulados, inamiloides. *Basídios* 20–24 × 3.7–5.6 µm, cilíndrico-clavado, hialinos, de parede fina, tetraesporados, com base fibulada. *Pleurocistídios* 18–24 × 5.5–7.0 µm, estreitamente utriforme, lisos, de parede fina, alguns de parede levemente espessada (1.5–2.5 µm de espessura) com 18–22 × 5.5–6.5 µm, septiforme, sem conteúdo citoplasmático. *Queilocistídios* 18–27 × 3.1–6.8 µm, flexuosos, lisos, de parede fina. *Pileipels* em formato de espicutis. Trama da lamela irregular

Brasil, Pará: Belterra, Floresta Nacional de Material examinado: Tapajós, BR 163 - KM 117 - trilha 7, próximo a sede do ICMBio/CONFLONA, 29.I.2015, Drechsler-Santos, E. R., DS 1684, DS 1687 e DS1689 (FLOR); Melgaco, Floresta Nacional de Caxiuanã, trilha da torre, 22.I.2015, Drechsler-Santos, E. R., DS1598 (FLOR). Mato Grosso: Parque Nacional da Chapada dos Guimarães, Localidade poço das antas. 07.IV.2015, Costa-Rezende, D. H., DHCR213 (FLOR). São Paulo: (PACA-FUNGI 13816). Paraná: Foz do Iguaçu, Parque Nacional do Iguaçu, trilha poço preto, 06.XI.2010, Karstedt, F., FK1655 (SP446145); ibid., atrás da casa/alojamento, 6.IX.2010, Karstedt, F., FK1648 (SP446143). Município de Londrina, Distrito de Paiquerê, Fazenda Figueira, 17.VII.2003, Menolli Jr., NMJ31 (SP446159). Santa Catarina: Município de Gaspar, Reserva Figueira Branca (RPPN), 04.X.2010, Karstedt, F., FK1637 (SP446141). Rio Grande do Sul: Taquerí, 30-IX.1965, Costa-Neto, J. P., (SP97890); Canela, 15.X.2016, Garcia, V. O., VOG36 (FLOR); Palmeira das Missões, 2016, Garcia, V. O., VOG38 (FLOR): ibid., Garcia, V. O., VOG40 (FLOR): ibid., Garcia,

V. O., VOG48 (FLOR); Santa Teresa, 2016, Garcia, V. O., VOG51 (FLOR); Araricá, 23.XI.207, Palácio, M., MP297 (FLOR).

*Distribuição geográfica*: Paleotropical. Não há registro na literatura de *P. fulvus* para o Brasil possivelmente pelo fato dos autores seguirem a descrição de Pegler (1983), onde *P. fulvus* é considerado um sinônimo de *P. velutinus*.

*Habitat:* Solitário, raramente gregário, com pseudoesclerócio. Crescendo sobre troncos mortos caídos.

Comentários: Panus fulvus é caracterizado por apresentar basidioma marrom e velutino, crescendo a partir de um pseudoesclerócio com um estipe alongado e denso. A característica estriada-sulcado do píleo é passível de observação em regiões onde a superfície superior está tornando-se glabrescente. Pegler (1983) considerou P. fulvus como sinônimo de P. velutinus mas trabalhos anteriores a este (e. g. Corner, 1981) consideravam-na como uma espécie distinta e incluíam ainda variedades: por exemplo, P. similis [Panus fulvus var. similis (Berk. & Broome) Corner], foi tratado por Corner como uma variedade de P. fulvus. Porém Panus fulvus difere de P. similis pela disposição das lamelas, por apresentar tricomas maiores e mais abundantes na superfície superior do píleo, e pela forma e tamanho dos pleuroscistídios. P. fulvus difere-se ainda de Panus velutinus por apresentar basidiomas menores, com estipe mais curto e lamelas bifurcadas. A literatura (Corner, 1981; Pegler, 1983) não informa com clareza onde encontra-se o tipo de Panus fulvus ou a localidade da coleta.



Figura 6. *Panus fulvus*. **a. c. d.** basidiomas desidratado. **b.** detalhe do himenóforo. Barra de escala = 1 cm.

Figura 7. *Panus fulvus.* **a.** hifas generativas de parede espessa. **b.** basidiósporos, escala:  $5 \mu m$ . **c.** basídios. **d.** pleurocistídios. **e.** queilocistídios. Barra de escala =10  $\mu m$ .



*Panus similis* (Berk. & Broome) T.W. May & A.E. Wood, *Mycotaxon* 54: 148 (1995) (Figura 8)

*Píleo* 24–35 mm diâm., infundibiliforme a ciatiforme, marrom escuro (N<sub>80</sub>Y<sub>70</sub>M<sub>60</sub>) quando desidratado, radialmente plicado-sulcado, estrias estendendo-se da margem até o centro, finamente velutino tornando mais glabrescente em direção ao centro, margem curvada e sulcada, *Lamelas* decurrentes, beges (N<sub>40</sub>Y<sub>60</sub>M<sub>40</sub>), subdistantes, com lamélulas, margem inteira. *Estipe* central 25–40 × 2.0–4.0mm, superfície vilosa e tomentosa da base ao ápice, marrom, concolor com a superfície pilear, cilíndrico, levemente alargado na base.

Sistema hifal dimítico: *hifas generativas* 2,0-4,0 µm diâm., hialinas, fibuladas, de parede fina, algumas com parede mais espessa, lúmen contínuo; *hifas esqueletais* 2.5–5.0 µm diâm., hialinas, de parede espessa, IKI-. *Basidiósporos* [60/1/3] 5.0–8.1 × 2.5–4.3 (Q<sub>m</sub>=1.94 µm; Q= 1.6-2.5 µm; L<sub>m</sub>= 6.87 µm; W<sub>m</sub>= 3.12 µm) elipsoide a cilindrico, hialinos, de parede fina, lisa, raramente gutulados, inamiloides. *Basídios* 17–23 (–32) × 5.0–6.2 µm, cilíndrico-clavado, hialinos, de parede fina, tetraesporados, com base fibulada. *Pleurocistídios* 20–37 (–47) × 3.7–7.5 µm, utriforme, lisos, de parede fina, alguns de parede levemente espessada (1.0–2.5 µm de espessura), com 20–34 × 3.7–6.5 µm, estreitamente utriforme, sem conteúdo citoplasmático. *Queilocistídios* 19–26 × 3.0–6.0 µm, flexuoso, lisos, de parede fina. *Pileipelis* em formato de epicutis. Trama da lamela irregular.

*Material examinado*: Brasil, São Paulo: Município de São Paulo, 2008, Capelari, M., MC4365 (SP446152). Caraguatatuba, Parque Estadual Serra do Mar, 19.I.2016, Elias, S. G. SGE238 (FLOR). *ibid.*, 20.I.2016, Reck, M. A. MAR1154 (FLOR). *ibid.* VII.2016, COPINI, E. EC72 (FLOR). Rio Grande do Sul: Araricá, 23.XI.2017, Palácio, M., MP296 (FLOR). Santa Catarina: Florianópolis, Parque Municipal da Lagoa do Peri, 11.XIII.2016, Guimarães, D. K. S. DG11 (FLOR); *ibid.* UCAD, trilha principal, 2012, Drechsler-Santos, E. R., DS840 (FLOR).

*Distribuição geográfica*: Pantropical (Pegler 1983). No Brasil o táxon apresenta distribuição para o domínio fitogeográfico da Mata Atlântica (Pilát, 1936; Teixeira 1946).

*Habitat:* Solitário, raramente gregário pode ou não apresentar pseudoesclerócio. Crescendo sobre troncos mortos caídos.

*Comentários: Panus similis* caracteriza-se por apresentar píleo plicadosulcado, ainda pela presença pleurocistídios fusoides, de parede espessada corroborando com a descrição de Pegler (1983), porém foi observado no espécime MC4365 (SP446152), além destes fusoides a presença de pleurocistídios com formato utriformes, de parede fina, nunca antes apontados na literatura (Pegler 1983). A espécie é semelhante a *P. fulvus* e difere por apresentar superfície superior do píleo finamente velutina e lamelas subdistantes. Corner (1981) considerou *P. similis* como variedade de *P. fulvus* e utilizou o tamanho dos tricomas para separar as variedades. A espécie foi descrita originalmente a partir de material coletado no Sri Lanka e foi registrada pela primeira vez como ocorrente no Brasil por Pilát em 1936.

Figura 8. *Panus similis*. **a.** vista geral do basidioma, escala = 1 cm. **b.** detalhe da superfície superior do píleo, escala = 1 cm. **c.** detalhe das lamelas subdistantes, escala = 1 cm. **d.** hifas generativas de parede espessa, escala: 5  $\mu$ m. **e.** basidiósporos, escala: 5  $\mu$ m. **f.** basídios. **g.** pleurocistídios. **h.** queilocistídios. Barra de escala =10  $\mu$ m.



*Panus strigellus* s. l. (Berk.) Overh., J. Dept. Agric. Porto Rico 14: 353 (1930). (Figuras 9, 10 e 11)

*Píleo* 18–62 mm diâm., aplanado a ciatiforme, purpúreo (N<sub>60</sub>A<sub>20</sub>M<sub>80</sub>) quando jovem e fresco e marrom a ocráceo (N<sub>30</sub>A4<sub>0</sub>M<sub>40</sub>) quando mais desenvolvido, superfície estrigoso-esquamulosa, tornando glasbrecente a medida que vai se desenvolvendo, margem involuta e ciliada.. *Lamelas* decurrentes, levemente rosadas quando frescas em basiomas jovens (N<sub>20</sub>A<sub>50</sub>M<sub>20</sub>), de coloração creme em basidiomas mais desenvolvidos, marrom clara (N<sub>20</sub>A<sub>60</sub>M<sub>30</sub>) quando desidratadas, mais claras que a superfície superior do píleo, bifurcadas, com lamélulas, margem inteira. *Estipe* central a excêntrico 21–48 × 2.0–5.0 mm superfície vilosa e tomentosa da base ao ápice, marrom (N<sub>50</sub>A<sub>70</sub>M<sub>30</sub>), cilíndrico, levemente alargado em direção ao ápice.

Sistema hifal dimítico: *hifas generativas* 2.0–4.5 µm diâm., hialinas, fibuladas, de parede fina, algumas com parede mais espessa, lúmen contínuo; *hifas esqueletais* 2.5–5.5 µm diâm., de parede espessa. *Basidiósporos* [90/1/4] 5.0–7.5 × 3.0–4.0 µm (Q<sub>m</sub>=1.80 µm; Q=1.5–2.1 µm; L<sub>m</sub>= 6.25 µm; W<sub>m</sub>= 3.5 µm), elipsoide a cilíndrico, hialinos, de parede fina, lisa, raramente gutulados, inamiloides. *Basídios* (14–) 16–23 × 4.0–5.5 µm, clavado, hialinos, de parede fina, tetraesporados, com base fibulada, gutulados. *Pleurocistídios* 30–68 (–75) × (–5.0) 7.0–12 (–15) µm, clavados, de parede fina, lisa e estreitamente utriforme, de parede espessa (1.5–3.0 µm de espessura) com 36–82 (–98) × 6.0–16 µm, sem conteúdo citoplasmático. *Queilocistídios* 23–56 (–72) µm × 6.5–13 µm, cilíndrico clavado, lisos, de parede fina. *Pileipels* em formato de <u>espicutis</u>. Trama da lamela irregular.

*Material examinado:* Brasil, Bahia: Cruz das Almas, campus da Universidade Federal do Recôncavo Baiano, 08.IX.2014, Drechsler-Santos, E. R., DS1400 (FLOR); Piauí: São Pedro do Piauí, IX.2017, Guimarães, D. K. S., DG66 (FLOR) Santa Catarina: Blumenau, Bugerkopf, 16.X.2011, Drechsler-Santos, E. R., DS584 (FLOR); Santa Catarina: Santa Rosa de Lima, Estrada Geral do Rio Bravo Alto - localidade 2 irmãos, 19.XI.2016, Drechsler-Santos, E. R., DS1872 (FLOR); Santa Catarina: Florianópolis, Parque Municipal do Córrego Grande, 27.VIII.2016, Guimarães, D. K. S., DG12 (FLOR); Santa Catarina: Florianópolis, Universidade Federal de Santa Catarina, Setor da Botânica, VIII.2015, Nunes, P. V. PVN03 (FLOR); *ibid.*, VIII.2015, Nunes, P. V. PVN04 (FLOR); *ibid.*, 27.VIII.2016, Guimarães, D. K. S., DG12 (FLOR); *ibid.*, 7.IX.2016, Guimarães, D. K. S., DG 13 e DG14

(FLOR); *ibid.*, 05.X.2016, Guimarães, D. K. S., DG16 (FLOR); *ibid.*, 17.X.2016, Guimarães, D. K. S., DG19 e DG21 (FLOR); *ibid.*, 19.X.2016, Guimarães, D. K. S., DG23 e DG24 (FLOR); *ibid.*, 21.X.2016, Guimarães, D. K. S., DG31 (FLOR); *ibid.*, poção, trilha da cachoeira, 21.X.2016, Guimarães, D. K. S., DG36, DG27 e DG28 (FLOR); ibid., 05.XI.2016, Guimarães, D. K. S., DG36 (FLOR); *ibid.*, Morro da Lagoa, 05.XI.2016, Guimarães, D. K. S., DG38 (FLOR); *ibid.*, Santo Amaro da Imperatriz, Plaza Caldas da Imperatriz, 16.I.2017, DUTRA, C. A. (FLOR). Rio Grande do Sul: São Salvador, 20. XII. 1945, Rick, (PACA-FUNGI 20480); São Leopoldo, 1935, Rick, (PACA-FUNGI 13819)

*Material adicional examinado* (holótipo de *Panus parvus*): Brasil, Pernambuco: Caruaru, Estação Experimental do IPA, 06.III.2009, E. R. Drechsler-Santos, DS0152PE (URM80840).

*Distribuição geográfica*: Táxon comumente encontrada na América do Sul, de distribuição restrita à América Latina (Pegler 1983). No Brasil sua ocorrência já foi registrada para os domínios fitogeográficos da Amazônia, Cerrado e Mata Atlântica (Pilát 1936; Pegler 1983; Putzke, 1994; Meijer, 2008; Gugliota et al. 2015; Vargas-Isla et al. 2015).

Habitat: Solitário ou gregário, sem pseudoesclerócio. Crescendo sobre troncos mortos caídos no solo, em mata aberta ou em áreas antropizadas. Comentários: O táxon é caracterizado geralmente por apresentar um estipe central e bem desenvolvido, robusto, além de perder a coloração purpúrea nos basidiomas desenvolvidos. Alguns espécimes analisados não apresentam a coloração purpúrea em nenhum dos estágios de desenvolvimento. Apresenta algumas características similares a Panus lecomtei, como forma dos basidiósporos e pleurocistídios, porém é distinto deste táxon por apresentar um estipe central e bem desenvolvido, além disso, diferem-se pelo formato dos queilocistídios e disposição dos pelos na superfície superior do píleo (Pegler 1983; Vargas-Isla et al. PVN03, PVN04 (fig. 11 a e b) e PACA-FUNGI 13819 2015). apresentam características contrastantes aos demais espécimes de P. strigellus, mantendo a coloração purpúrea mesmo nos basidiomas desenvolvidos e desidratados, além de diferir no formato dos queilocistídios. O tipo de P. parvus (fig. 11 g e h) compartilha características com o material DS1872 (fig. 11 e e f), como presença de escamas espiniformes espalhadas na superfície superior do píleo, formato e tamanho das estruturas estéreis, diferindo-se no tamanho dos basidiomas e basidiósporos (4.5–6.0  $\times$  2.0–3.5 µm versus 5.0–7.5  $\times$ 3.0-4.0 µm, respectivamente). O espécime DG 36 (fig. 11 c e d) apresenta o basidioma mais robusto que os demais espécimes analisados morfologicamente e difere também no tamanho dos pleurocistídios  $[30-68 (-75) \times (-5.0) 7.0-12 (-15) \mu m$  de parede fina e  $36-82 (-98) \times 6.0-16 \mu m$  de parede espessa *versus*  $21-56 \times 7.0-12 (-15) \mu m$  de parede fina e  $22-60 (-72) \times 4.0-12 \mu m$  de parede espessa].

As reconstruções filogenéticas revelaram que *P. parvus* como atualmente entendido, pode se tratar de um sinônimo de *P. strigellus*. Drechsler-Santos et al. (2012) fizeram inferência sobre a relação entra essas duas espécies ao descrever *Panus parvus*, e mais recentemente Vargas-Isla (2015) confirmou a idependência de *P. strigellus*, que até então era considerada por alguns autores (*e. g.* Pilát 1935, Singer1951a, 1986) como uma variedade *P. lecomtei*, contudo o status dessa espécie precisa ser reavaliado pois nossas análises do ponto de vista morfológico, indicam uma variação morfológica dentro do conceito mais atual (Vargas-Isla et al. 2015) estabelecido para essa espécie. Diante disso, não foi possível dar tratamento taxonômico para o táxon e por esse motivo é tratado neste estudo como sensu lato. É um táxon que foi descrito originalmente a partir de coletas realizadas em Cuba por Berkeley como *Lentinus strigellus*. O registro da espécie no Brasil foi feito por Lloyd, como *Lentinus subglaber* Lloyd em 1923. Figura 9. Basidiomas de *Panus strigellus* s. **a.** vista geral de basidiomas em estágio inicial de desenvolvimento. **b.** e **c.** vista geral do basidioma maturo **d.** detalhe do estipe **e.** detalhe da superfície superior do píleo. Barra de escala =1 cm.



Figura 10. Basidiomas de *Panus strigellus* s. l. **a. e. h.** detalhes dos basidiomas desidratados c. detalhe do himenóforo **b. d. f.** e **g.** detalhe da superfície superior do píleo. Barra de escala =1 cm. (holótipo de *Panus parvus*- **g.** e **h**.)



Figura 11. *Panus strigellus*. **a.** hifas generativas, escala: 5  $\mu$ m. **b.** basidiósporos, escala: 5  $\mu$ m. **c.** basídios. **d.** queilocistídios. **e.** pleurocistídios. Barra de escala =10  $\mu$ m.



# Panus cf. tephroleucus (Figura 12 e 13)

*Píleo* 11–16 mm diâm., infundibiliforme, marrom (N<sub>80</sub>A<sub>50</sub>M<sub>40</sub>) quando fresco e mais escuro quando desidratado (N<sub>99</sub>Y<sub>60</sub>M<sub>50</sub>), estrigoso-fibriloso, com pêlos em toda superfície, distribuídos em zonações concêntricas e organizados em fascículos principalmente no centro, margem involuta e pilosa. *Lamelas* decurrentes, beges a levemente amareladas quando frescas, marrom claras (N<sub>40</sub>Y<sub>70</sub>M<sub>50</sub>) quando desidratas, numerosas, com lamélulas, margem lisa. *Estipe* central 14–24 × 2.0–4.0 mm, superfície estrigosa-fibrilosa, bege escuro (N<sub>60</sub>Y<sub>50</sub>M<sub>40</sub>) quando desidratado, cilíndrico, levemente alargado em direção ao ápice e à base.

Sistema hifal dimítico: *hifas generativas* 2.0–4.0 µm diâm., hialinas, fibuladas, ramificadas, de parede fina, com lúmen continuo; *hifas esqueletais* 2.5–4.5 µm diâm., hialinas, de parede espessada, ocasionalmente com ramificações laterais, IKI-. *Basidiósporos* [30/1/1] 5.6–8.7 × 2.5–5.0 µm (Qm=2.12 µm; Q= 1.7-2.4 µm; Lm= 7.5 µm; Wm= 3.12 µm) elipsoide a cilíndrico, hialinos, de parede fina, lisa, raramente gutulados, inamiloides. *Basídios* 17–24 × 5.0–7.5 µm, cilíndrico-clavado, hialinos, de parede fina, tetraesporados, com base fibulada. *Pleurocistídios* 18–34 × 5.0–8.7 µm, clavados, lisos, de parede levemente espessada (1.0–2.0 µm de espessura), sem conteúdo citoplasmático. *Queilocistídios* 19–30 ×3.1–5.0 µm, flexuoso, lisos, de parede fina. *Pileipelis* em formato de epicutes. Trama da lamela irregular.

*Material examinado:* Brasil, Pará: Floresta Nacional de Caxiunã, Terreno da Comunidade de São Sebastião- Rio Igarapé do Curuá, Município de Caxiunã (14°25'03"S, 51°27'12"W, alt: 18 m), 15.II.2011, Karstedt, F., FK1873 (SP446149).

*Distribuição geográfica*: O táxon apresenta distribuição Neotropical (Pegler 1983). No Brasil tem registro para os domínios fitogeográficos da Amazônia, Caatinga e Mata Atlântica (Pegler 1983, 1997; Putke, 1994; Gomes-Silva & Gibertoni 2009; Dreschler-Santos et al. 2012; Gugliota et al. 2015.

*Habitat:* Solitário, raramente gregário, pode ou não apresentar pseudoesclerócio. Crescendo sobre troncos mortos caídos.

*Comentários*: O espécime é similar a *Panus tephroleucus* (Mont.) T. W. May & A. E. Wood., porém as morfologias macro e microscópicas diferem em alguns pontos, tanto da descrição de Pegler (1983) quanto dos comentários de Drechsler-Santos et al. (2012) sobre o táxon. O formato dos pleurocistídios são clavados e de parede fina, enquanto que os autores apontam a presença de pleurocistídios fusoides, de parede espessada,

além disso o estipe do material estudado não é velutino como aponta a literatura (Pegler 1983; Drechsler-Santos et al. 2012). O espécime diferese de *Panus velutinus* por ter basidioma menor, estipe mais curto e pelo espaçamento das lamelas, além disso, o formato apresenta queilocistídios flexuosos, enquanto que a forma em *P. velutinus* é clavado (Pegler 1983). Por ser observada diferença na morfologia do espécime analisado, com o que é apontado pelas literaturas, o táxon aqui será tratado como *conferatus*. Estudos futuros serão requeridos com mais espécimes desse táxon, incluindo o tipo de *P. tephroleucus*, para confirmar se o espécime corresponde a *P. tephroleucus*. Figura 12. *Panus* cf. *tephroleucus* **a.** e **d.** vista geral do basidioma fresco e desidratado. **b.** e **c.** detalhe da superfície superior do píleo fresco e desidratado. Barra de escala = 1cm. Fonte das fotos: Fernanda Kasterdt.


Figura 13. *Panus* cf. *tephroleucus* **a.** hifas generativas, escala: 5  $\mu$ m. **b.** basidiósporos, escala: 5  $\mu$ m. **c.** basídios. **d.** pleurocistídios. **e.** queilocistídios. Barra de escala =10  $\mu$ m.



*Panus velutinus* (Fr.) Sacc., Syll. Fung. (Abellini) 5: 618 (1887) (Figura 14 e 15)

*Píleo* 90–120 mm diâm., infundibiliforme, marrom claro ( $N_{70}M_{50}C_{40}$ ), velutino em toda superfície. *Lamelas* decurrentes, marrom ( $A_{90}M_{50}C_{30}$ ), mais claros que a superfície superior do píleo, subdistantes, com lamélulas, margem inteira. *Estipe* central 35–140 × 3.0–5.0mm, superfície vilosa e tomentosa da base ao ápice, marrom claro, concolor com a superfície pilear, cilíndrico, levemente alargado na base, firme, presença de pseudoesclerócio.

Sistema hifal dimítico: *hifas generativas* 2.0–4.5 µm diâm., hialinas, fibuladas, de parede fina, algumas com parede mais espessa, lúmen contínuo; *hifas esqueletais* 2.5–5.0 µm diâm., hialinas, de parede espessa, IKI-. *Basidiósporos* [80/1/4] 4.5–7.0 × 3.0–4.0 µm (Q<sub>m</sub>=1.78 µm; Q= 1.5–2.1 µm; L<sub>m</sub>= 6.0 µm; W<sub>m</sub>= 3.25 µm), elipsoide a cilíndrico, hialino, de parede levemente engrossada, lisa, raramente gutulados, inamiloides. *Basídios* 22–25 × 4.0–5.5 µm, cilíndrico-clavado, hialinos, de parede fina, tetraesporados, com base fibulada. *Pleurocistídios* (22–) 25–31 × 5.5–9.0 µm, clavados, lisos, de parede fina, com conteúdo citoplasmático, alguns de parede levemente espessada (1.5–2.0 µm de espessura), com 28–50 × 4.0–7.0 µm, clavados e fusoides, sem conteúdo citoplasmático. *Queilocistídios* (22–) 25–36 (–40) × 5.0–8.5 µm, clavado a fusoide, lisos, de parede fina. *Pileipelis* em formato tricodermal. Trama da lamela irregular.

*Material examinado*: Brasil, Paraná: Piraí do Sul, localidade Corpo Seco, 30.VII.2016, Comin, M., CM10 (FLOR); Município de Foz do Iguaçu, Parque Nacional Iguaçú, Trilha do Hidrometro, 07.XI.2010, Karstedt, F. FK1659 (SP446146); *ibid.*, Trilha da Represa, Karstedt, F., FK1669 (SP446147). Santa Catarina: Florianópolis, Morro da Lago-Trilha do Jipe, 19.IV.2016, Guimarães, D. K. S., DG01 (FLOR); Rio Grande do Sul: Município de Taquarí, Coqueiros, 30.IX.1965, Costa-Neto, J. P. (SP97890). Rio Grande do Sul: Canela, 09.X.2016. Garcia, V. O., VOG30 (FLOR). São Paulo: Município de Santo André, Estação Biológica de Paranapiacaba, XI.1959, Gomes, A. (SP46390); Reserva Biológica, Parque Estadual das Fontes do Ipiranga, 30.V.1984, Romaniuc-Neto, S. (SP193686). Mato Grosso: Nova Ubiratan. Estação Ecológica do Ronuro. 22.II.2017, DS1908 (FLOR).

*Distribuição geográfica*: Pantropical (Américas Central e Sul, África, Ásia e Austrália) segundo Pegler (1983). Sua ocorrência é registrada para os domínios fitogeográficos da Amazônia, Caatinga, Cerrado, Mata

Atlântica e Pampa de vários estados brasileiros (Pegler, 1983, 1987; Putzke, 1994; Meijer, 2008; Maia et al. 2015; Gugliota et al. 2015).

*Habitat:* Solitário, raramente gregário sempre com pseudoesclerócio. Crescendo sobre troncos mortos caídos.

*Comentários: Panus velutinus* é caracterizado por possuir basidiomas robustos, píleo que se dobra da margem ao meio, estipe longo e esguio, superfície velutina, e por apresentar pseudoesclerócios na base do estipe. Difere-se *de P. fulvus* não só pelas características macromorfológicas apresentadas acima, como também pela forma e tamanho das estruturas estéreis. *Panus velutinus* apresenta pleurocistídios clavados e fusoides, e queilocistídio clavados, enquanto que *P. fulvus* apresenta pleurocistídos flexuosos. Embora não seja mencionada no trabalho de Pegler (1983) a descrição de pleurocistídios e queilocistídios, consideramos os espécimes como *P. velutinus* pela similaridade com as demais características apresentadas pelo autor.

A espécie apresenta uma ampla distribuição geográfica e uma considerável variação morfológica (Nuñez & Ryvarden 1995, 2001). Pegler (1983) menciona que *P. velutinus* pode se tratar de um complexo de espécies, pelas mesmas características relatadas acima por Nuñez & Ryvarden sobre a espécie, evidenciando a necessidade de revisão morfológica e análises moleculares aprofundadas. Saccardo (1887) registrou pela primeira vez a espécie no Brasil como *Pleurotus strigellus* (Berk.) Sacc. em 1887.

Figura 14. *Panus velutinus* **a.** vista geral do basidioma, escala= 2 cm **b.** detalhe da superfície superior do píleo. **c.** detalhes do himenóforo. Barra de escala = 1 cm.

Figura 15. *Panus velutinus*. **a.** hifas generativas, escala: 5  $\mu$ m. **b.** basidiósporos, escala: 5  $\mu$ m. **c.** basídios. **d**. queilocistídios. **e.** pleurocistídios. Barra de escala =10  $\mu$ m.



#### Panus sp. nov. 1 (Figura 16 e 17)

*Píleo* 22–30 mm diâm., infundibiliforme marrom escuro (N<sub>90</sub>A<sub>70</sub>M<sub>10</sub>) quando desidratado, tomentoso em toda superfície, margem involuta e pilosa. *Lamelas* decurrentes, marrom (N<sub>60</sub>A<sub>50</sub>M<sub>50</sub>) quando desidratadas, bifurcadas, com lamélulas, margem inteira. *Estipe* central a excêntrico 38–65 × 2–5 mm, noduloso (7–9mm) superfície velutina e tomentosa da base ao ápice, marrom, concolor com a superfície pilear, cilíndrico a flexuoso.

Sistema hifal o dimítico: *hifas generativas* 1,5–5,0 µm diâm., hialinas, fibuladas, de parede fina, algumas com parede mais espessa, lúmen contínuo; *hifas esqueletais* 2,5-5,0 µm diâm., de parede espessa. *Basidiósporos* [60/1/3] 4,0–5,5 (–6) × 2,0–3,0 µm (Q<sub>m</sub>=1,82 µm; Q=1,6–2,0 µm; L<sub>m</sub>= 5,0 µm; W<sub>m</sub>= 2,5 µm), elipsoide a subelipoide, hialinos, de parede fina, lisa, raramente gutulados, inamiloides. *Basídios* 17–22 (–24) × 4,5–7,0 µm, cilíndrico-clavado, hialinos, de parede fina, tetraesporados, com base fibulada. *Pleurocistídios* 40–62 × 5–9 µm, flexuosos de ápice subcaptado e clavados, de parede fina, lisa e fusoide de parede espessa (1,0-1,5µm de espessura) com 17–24 × 5–8 µm, sem conteúdo citoplasmático. *Queilocistídios* (11–) 13–22 × 3,5–7 µm, flexuosos, lisos, de parede fina. *Pileipels* em formato de espicutis. Trama da lamela irregular.

*Material examinado:* Brasil, Santa Catarina: Florianópolis, Parque Municipal do Córrego Grande, 04.VI.2016, Guimarães, D. K. S., DG06 (FLOR); UCAD, 28.III.2017, Oliveira, C. A. T. CATO176 (FLOR). Rio Grande do Sul: Porto Alegre, Morro Santana, 27.VII.2016, Alves-Silva, G., GAS850 e GAS851 (FLOR).

Distribuição geográfica: Mata Atlântica da região Sul

*Habitat:* Solitário, raramente gregário sempre com pseudoesclerócio. Crescendo sobre troncos mortos caídos.

*Comentários: Panus* sp. nov. 1 é caracterizado por apresentar um estipe com porções nodulosas, que por vezes pode se estender em toda superfície do estipe ou encontrar-se no meio ou na base. Os pleurocístidos de parede fina encontram-se quase que totalmente imersos no himênio e alguns podem se projetar a partir da porção inicial da trama lamelar. A projeção no himênio vai de  $3,5-8,0 \mu m$  e a origem dentro da trama da lamela chega ao máximo de  $3 \mu m$ . Assemelha-se a *P. fulvus*, porém as morfologias macro e microscópicas são distintas em alguns pontos. *Panus fulvus* não apresenta estipe noduloso e possui pleurocistídios menores e de formato diferente [18–24 × 5,5–7,0 µm, estreitamente utriforme, parede fina; com

 $18-22 \times 5,5-6,5 \mu m$ , septiforme, parede levemente espessada com  $1,5-2,5 \mu m$  de espessura *versus*  $40-62 \times 5-9 \mu m$ , clavados, de parede fina, lisa e fusoide de parede espessa  $(1,0-1,5\mu m)$  de espessura) com  $17-24 \times 5-8 \mu m$ ]. Além disso, os basidiósporos e basídios de *Panus* sp. nov. 1 são ligeiramente menores (Tabela II). Os espécimes examinados são morfologicamente distintos das demais espécies de *Panus*, sendo, portanto, considerada como uma novidade científica. As duas análises filogenéticas moleculares também corroboram a hipótese de espécie nova.

Figura 16. *Panus* sp. nov. 1 **a. d.** e **g.** vista geral do basidioma desidratado. **b.** detalhe da superfície superior do píleo. **c.** detalhes do himenóforo. **d.** detalhe do basidioma desidratado. Barra de escala =1 cm.



Figura 17. *Panus* sp. nov. 1 **a.** hifas generativas, escala: 5  $\mu$ m. **b.** basidiósporos, escala: 5  $\mu$ m. **c.** basídios. **d.** queilocistídios. **e.** pleurocistídios. Barra de escala =10  $\mu$ m.



Tabela II. Características comparativas entre *Panus campinenses* comb. nov., *Panus fulvus* Pegler & R. W. Rayner, *Panus velutinus*(Fr.) Sacc. e *Panus* sp. nov. 1

| Características | <i>Panus campinenses</i><br>(Teixeira) <b>comb. nov.</b>      | <i>Panus fulvus</i> Pegler & R.<br>W. Rayner  | Panus velutinus(Fr.)<br>Sacc.                        | Panus sp. nov. 1                                     |
|-----------------|---|---|--|--|
| Estipe          | Flexuoso, sem nódulo  | Cilíndrico a flexuoso,<br>sem nódulo  | Cilíndrico, sem nódulo                               | Cilíndrico a flexuoso,<br>noduloso                   |
| Basidiósporos   | 5–6 × 2.5–3 $\mu$ m, Q <sub>m</sub> = 1.50 $\mu$ m elipsoides | $5-7.5 \times 3.1-4.3 \ \mu\text{m}, \ Q_{m}=$<br>1,75 \ \mu\mm, elipsoides a cilindricos | $\begin{array}{rrrrrrrrrrrrrrrrrrrrrrrrrrrrrrrrrrrr$ | $\begin{array}{llllllllllllllllllllllllllllllllllll$ |
| Basídios        | Sem descrição   | $20-24 \times 3,7-5,6 \ \mu$ m, cilíndrico-clavado  | $22-25 \times 4,0-5,5 \mu m$ , cilíndrico-clavado    | 17–22 (–24) × 4,5–7,0<br>μm, cilíndrico-clavado      |

| Características | <i>Panus campinenses</i><br>(Teixeira) <b>comb. nov.</b> | <i>Panus fulvus</i> Pegler & R.<br>W. Rayner  | Panus velutinus(Fr.)<br>Sacc.  | Panus sp. nov. 1  |
|-----------------|--|---|--|---|
| Pleurocitídios  | Sem descrição  | 18,5–24 × 5,5–7,0 $\mu$ m,<br>estreitamente utriformes,<br>lisos, de parede fina,<br>alguns de parede<br>levemente espessada<br>(1,5–2,5 $\mu$ m de<br>espessura) com 18–22 ×<br>5,5–6,5 $\mu$ m, septiformes | $(22-)25-31 \times 5,5-9,0$<br>µm, clavados, lisos, de<br>parede fina, com<br>conteúdo<br>citoplasmático, alguns<br>de parede levemente<br>espessada (1,5-2,0 µm<br>de espessura), com<br>$28-50 \times 4-7,0$ µm,<br>clavados e fusoides,<br>sem conteúdo<br>citoplasmático | 40-62 × 5-9 $\mu$ m,<br>flexuosos de ápice<br>subcaptado e clavados,<br>de parede fina, lisa e<br>fusoides de parede<br>espessa (1,0-1,5 $\mu$ m de<br>espessura) com 17-24<br>× 5-8 $\mu$ m, sem<br>conteúdo<br>citoplasmático |
| Queilocistídios | Sem descrição  | $18,1-27 \times 3,1-6,8 \mu m$ , flexuosos de parede fina,  | $(-22)$ 25–36 $(-40) \times 5-$<br>8.5 µm clavado a fusoides, de parede fina   | (-11) 13-22 × 3,5-7<br>μm, flexuosos de<br>parede fina  |

#### Panus sp. nov. 2 (Figura 18 e 19)

*Píleo* 18–50 mm diâm., aplanado quando jovem, infundibiliforme quando desenvolvido, branco a creme (N<sub>10</sub>A<sub>20</sub>M<sub>10</sub>) quando fresco tornando-se bege quando desidratado (N<sub>10</sub>A<sub>30</sub>M<sub>20</sub>) piloso-esquamuloso somente na porção central, margem involuta e glabra. *Lamelas* decurrentes, bege a marrom rosada quando fresca (A<sub>50</sub>M<sub>40</sub>C<sub>30</sub>) e marrom (A<sub>80</sub>M<sub>50</sub>C<sub>30</sub>) quando desidratadas, bifurcadas, com lamélulas, margem inteira. *Estipe* central a excêntrico 28–45 × 2.0–5.0 mm, superfície glabrescente, fibriloso, marrom, concolor com a superfície pilear, flexuoso, levemente alargado em direção ao ápice.

Sistema hifal dimítico: *hifas generativas* 2.0–5.0 µm diâm., hialinas, fibuladas, de parede fina, algumas com parede mais espessa, lúmen contínuo; *hifas esqueletais* 2.5–5.5 µm diâm., de parede espessa. *Basidiósporos* [40/1/2] (4.0–)  $5.0-7.5 \times 2.5-3.5$  (Q<sub>m</sub>=1.91 µm; Q=1.6–2.2 µm; L<sub>m</sub>= 6.0 µm; W<sub>m</sub>= 3.0 µm), elipsoide a cilíndrico, hialinos, de parede fina, lisa, raramente gutulados, inamiloides. *Basídios* (18–) 21–35 (–49) × 4.5–9.0 µm, cilíndrico-clavado, hialinos, de parede fina, lisa e estreitamente utriforme de parede espessa (1.5–3.0 µm de espessura) com 22–64 × 6.0–12 µm, sem conteúdo citoplasmático. *Queilocistídios* 22–39 (–42) × 6.5–12 µm, clavados, lisos, de parede fina. *Pileipels* em formato de espicutis. Trama da lamela irregular.

*Holótipo:* BRASIL. Santa Catarina: Florianópolis, Universidade Federal de Santa Catarina, próximo ao departamento de Botânica, 01-XI-2013, DS1151 (FLOR).

*Material examinado:* Brasil, Santa Catarina: Florianópolis, Universidade Federal de Santa Catarina, 01.XI.2013, Dreschsler-Santos, E. R., DS1151 (FLOR); *ibid.*, 18.X.2016, Guimarães, D. K. S., DG25 (FLOR); *ibid.*, 02.XII.2017Guimarães, D. K. S., DG68 (FLOR).

Distribuição geográfica: Mata Atlântica de Santa Catarina

Habitat: Gregário, sem pseudoesclerócio. Crescendo sobre troncos mortos caídos.

*Comentários:* A espécie apresenta como características diagnósticas o píleo glabro, esbranquiçado, com esquâmulas e pêlos restritos a porção central, estipe fibriloso e glabrescente. *Panus* sp. nov. 2 assemelha-se a *Lentinus striatulus* Lév., diferindo em alguns pontos quanto a morfologia macro e microscópica, tanto na descrição de Pegler (1983) quanto na de Putzke & Putzke (2002) sobre o táxon. Essa espécie não apresenta

esquâmulas grudadas no estipe, hifas esqueleto-ligadoras, além disso diferem no formato dos queilocistídios (Pegler 1983; Putzke & Putzke 2002). Compartilha característica também com *P. hirfiformis* (Murril) Drechsler-Santos & Wartchow, como coloração e tamanho dos basidiomas, contudo a espécie aqui descrita, apresenta pleurocistidios bem maiores e com forma diferente (28–80 × 5.0–9.0 µm lanceolados *versus* 30–45 × 6.0–9.0 µm clavados e estritamente clavados) ao que foi observado em *P. hirfiformis* (Tabela III). Os espécimes examinados são morfologicamente distintos das demais espécies de *Panus*, sendo, portanto, considerada como uma novidade científica, os filogramas apresentados também corroboram a hipótese de espécie nova.

Figura 18. *Panus* sp. nov.2 a. e b. vista geral do basidioma fresco e desidratado. c. detalhe do estipe. Barra de escala = 1cm..



Figura 19. *Panus* sp. nov. 2 **a.** hifas generativas **b.** basidiósporos, escala: 5  $\mu$ m. **c.** basídios. **d.** pleurocistídios. **e.** queilocistídios. Barra de escala =10  $\mu$ m.



Tabela III. Características comparativas entre *Panus levis* Berk. & M. A. Curtis, *Lentinus striatulus* Lév., *Panus hirtiformis* (Murrill) Drechsler-Santos & Wartchow e *Panus* sp. nov. 2

| Características | <i>Panus levis</i> Berk. & M.<br>A. Curtis (Descrição de<br>Pegler, 1983)   | <i>Lentinus striatulus</i> Lév.<br>(Descrição de Pegler,<br>1983)  | Panus<br>hirtiformis (Murrill)<br>Drechsler-Santos &<br>Wartchow (Descrição de<br>Pegler, 1983)              | Panus sp. nov. 2  |
|-----------------|---|--|--|---|
| Píleo           | Branco, tornando-se<br>salmão pálido em<br>basidiomas mais<br>desenvolvidos | Branco a creme,<br>finamente pubescente,<br>gabrescente execeto na<br>margem, levemente<br>fibrilosa-estrigosa | Ocráceo, glabro com<br>poucas esquâmulas<br>localizadas no centro do<br>píleo, margem ciliada<br>esquamulada | Branco a creme,<br>tornando-se bege em<br>basidiomas mais<br>desenvolvidos, glabro,<br>piloso-esquamuloso na<br>porção central do píleo |
| Basídios        | 22–29 $\times$ 5–7,5 $\mu m,$ clavados                                      | 13–15 $\times$ 3,5–4,5 $\mu m,$ clavados   | 15–19 $\times$ 3,5–4,5 $\mu m,$ clavados   | 21–36 (–40) × 6,5–9,0<br>μm, clavados   |
| Basidiósporos   | 9,0–16 × 4–5,7 $\mu$ m,<br>Q=2,4 $\mu$ m, cilíndrico de<br>parede fina      | $6,0-8,5 \times 1,7-2,5 \mu m$ , Q=3,2 $\mu m$ , cilíndricos, de parede fina                                   | 5,0–7,0 × 1,5–2,5 $\mu$ m, Q=2,81 $\mu$ m, cilíndricos de parede fina  | 5,0–7,5 × 2,5–3,5 μm,<br>Q=1,91 μm, elipsoides a<br>cilíndricos de parede<br>fina   |

| Características | <i>Panus levis</i> Berk. & M.<br>A. Curtis (Descrição de<br>Pegler, 1983) | <i>Lentinus striatulus</i> Lév.<br>(Descrição de Pegler,<br>1983) | Panus hirtiformis (Murrill)Drechsler-Santos&Wartchow (Descrição dePegler, 1983)                          | Panus sp. nov. 2   |
|-----------------|---|---|--|--|
| Sistema hifal   | Hifas esqueletais   | Hifas esqueleto-ligadoras   | Hifas esqueletais  | Hifas esqueletais  |
| Pleurocitídios  | Ausentes  | Sem descrição   | $28-80 \times 5,0-9,0 \ \mu m$ ,<br>lanceolados, de parede fina<br>ou levemente espessa (-1<br>$\mu m$ ) | $30-45 \times 6,0-9,0 \mu m$ ,<br>clavados, de parede<br>fina, lisa e<br>estreitamente<br>utriforme de parede<br>espessa (1,5-3 $\mu m$ de<br>espessura) com 22-64 ×<br>6,0-12 $\mu m$ |
| Queilocistídios | Ausentes  | $20-27 (-55) \times 1,0-2,5$ µm, hifoide de parede fina           | $20-24 \times 5-7,5 \ \mu m$ , clavados de parede fina   | 22–39 (–42) $\times$ 6,5–12 $\mu m,$ clavados de parede fina   |

#### Panus sp. nov. 3 (Figura 20 e 21)

*Píleo* 11–40 mm diâm., infundibiliforme a ciatiforme, marrom escuro (N<sub>60</sub>A<sub>60</sub>M<sub>50</sub>) quando desidratado. *Lamelas* decurrentes, marrom vináceas (N<sub>60</sub>A<sub>30</sub>M<sub>40</sub>), subdistantes, com lamélulas, margem inteira. *Estipe* central 13–24 × 3.0–5.0 mm, superfície vilosa e tomentosa da base ao ápice, marrom, concolor com a superfície pilear, cilíndrico, levemente alargado na base.

Sistema hifal dimítico: *hifas generativas* 2,0–4,5 µm diâm., hialinas, fibuladas, de parede fina, algumas com parede mais espessa, lúmen contínuo; *hifas esqueletais* 2,5–6,0 µm diâm., hialinas, de parede espessa, IKI-. *Basidiósporos* [30/1/1] 6.5–11.5 (–12) × 4.0–5.5 (–6.0) µm (Q<sub>m</sub>=1.97 µm; Q= 1.6–2.4 µm; L<sub>m</sub>= 10 µm; W<sub>m</sub>= 5.0 µm) elipsoides a cilíndricos, hialinos, de parede levemente espessa, lisa, raramente gutulados, inamiloides. *Basídios* 17–26 × (–5.5) 6.0–8.0 µm, cilíndrico-clavados, hialinos, de parede fina, tetraesporados, com base fibulada. *Pleurocistídios* (22–)25–32 × 5.5–7.0 µm clavados, lisos, de parede fina, alguns de parede levemente espessada (1.0–2.0 µm de espessura), com 23–46 × 4.0–7.5 µm fusoide, sem conteúdo citoplasmático. *Queilocistídios* (18–)21–28 × 4.0–7.5 µm, clavados, lisos, de parede fina. *Pileipelis* em formato tricodermal. Trama da lamela irregular.

*Material examinado*: Brasil, Rio Grande do Sul: Varzea Grande, município de Gramado, 07.V.1961, Costa-Neto, J. P., SP60914.

Distribuição geográfica: Mata Atlântica do Rio Grande do Sul.

Habitat: Gregário, sem indícios de pseudoesclerócio.

*Comentários: Panus* sp. nov. 3 é caracterizada por apresentar basidiósporos grandes, de parede levemente espessa. Compartilha algumas características com *P. campinenses, P. fulvus* e *P. velutinus,* porém as morfologias macro e microscópicas diferem em alguns pontos, nas descrições de Pegler (1983) sobre esses táxons. Todas as espécies comparativas apresentam basidiósporos menores  $[5.0-6.0 \times 2.5-3.0 \,\mu\text{m}; 5.0-7.5 \times 3.1-4.3 \,\mu\text{m}; 4.5-7.0 \times 3.0-4.0 \,\mu\text{m}$  *versus*  $6.5-11.5 \,(-12) \times 4.0-5.5 \,(-6.0) \,\mu\text{m}]$  e de parede fina, além disso *Panus*. sp. nov. 3 apresenta basídios menores e não apresenta indícios da presença de pseudoesclerócio (Tabela IV). Espécies como esporos grandes, como *P. levis*  $(9,0-16 \times 4-5,7 \,\mu\text{m})$  diferem de *Panus* sp. nov. 3 por apresentar um basidioma de coloração clara e principalmente pela ausência de estruturas estéreis no himênio (Pegler 1983). O espécime examinado é morfologicamente distinto das demais espécies de *Panus*, sendo, portanto, aqui considerada como uma novidade científica.

Figura 20. *Panus* sp. nov. 3 **a** e **b**. vista geral do basidioma **c**. detalhe do basidioma jovem **d**. detalhe do estipe e substrato. Barra de escala = 1cm.



Figura 21. *Panus* sp. nov. 3. **a.** hifas generativas, escala: 5  $\mu$ m. **b.** basídios. **c.** pleurocistídios. **d.** queilocistídios. **e.** basidiósporos. Barra de escala =10  $\mu$ m.



| Tabela IV. Características comparativas entre | Panus campinenses com | <b>b. nov.,</b> Panus fulvus I | Pegler & R. W | . Rayner, Panus |
|---|-----------------------|--------------------------------|---------------|-----------------|
| velutinus(Fr.) Sacc. e Panus sp. nov. 3       |                       |                                |               |                 |

| Características  | Panus campinenses<br>(Teixeira) <b>comb. nov.</b>   | Panus fulvus Pegler &<br>R. W. Rayner                | Panus velutinus(Fr.)<br>Sacc.   | Panus sp. nov. 3  |
|------------------|---|--|---|---|
| Pseudoesclerócio | Presente  | Presente   | Presente  | Sem indícios  |
| Basidiósporos    | $5-6 \times 2.5-3 \ \mu\text{m}$ , Qm=<br>1.50 $\ \mu\text{m}$ elipsoides de<br>parede fina | $\begin{array}{llllllllllllllllllllllllllllllllllll$ | $4.5-7 \times 3-4 \ \mu m$ ,<br>Qm=1,78 $\ \mu m$ , elipsoides<br>a cilíndricos de parede<br>fina | 6.5–11.5(–12) × 4–5.5(–<br>6) μm, Qm=1,97 μm<br>elipsoides a cilíndricos<br>de parede levemente<br>engrossada |
| Basídios         | Sem descrição   | $20-24 \times 3,7-5,6$ µm, cilíndrico-clavados       | $22-25 \times 4,0-5,5 \ \mu m$ , cilíndrico-clavados  | 17–26 × (–5,5)6,0–8,0<br>μm, cilíndrico-clavados  |

| Características | <i>Panus campinenses</i><br>(Teixeira) <b>comb. nov.</b> | Panus fulvus Pegler &<br>R. W. Rayner  | Panus velutinus(Fr.)<br>Sacc.   | Panus sp. nov. 3  |
|-----------------|--|--|---|---|
| Pleurocitídios  | Sem descrição  | 18,5–24 × 5,5–7,0 $\mu$ m,<br>estreitamente<br>utriformes, lisos, de<br>parede fina, alguns de<br>parede levemente<br>espessada (1,5-2,5 $\mu$ m<br>de espessura) com<br>18–22 × 5,5–6,5 $\mu$ m,<br>septiformes | $(-22)25-31 \times 5,5-9,0$<br>$\mu$ m, clavados, lisos, de<br>parede fina, com<br>conteúdo citoplasmático,<br>alguns de parede<br>levemente espessada<br>$(1,5-2,0 \ \mu$ m de<br>espessura), com 28-50 ×<br>4-7,0 $\mu$ m, clavados e<br>fusoides, sem conteúdo<br>citoplasmático | 25–32 × 5,5–7,0 μm<br>clavados, lisos, de<br>parede fina, alguns de<br>parede levemente<br>espessada (1,5-2 μm de<br>espessura) com 23–46 ×<br>4–7,5 μm, fusoides |
| Queilocistídios | Sem descrição  | 18,1–27 × 3,1–6,8 $\mu$ m, flexuosos de parede fina,   | (-22) 25–36 (-40) $\times$ 5–<br>8.5 µm clavados a<br>fusoides, de parede fina  | (21–)23–28 × 4–7.5 μm,<br>clavados, de parede<br>fina   |

# Chave de identificação para as de espécies de *Panus* ocorrentes no Brasil

| 1. Píleo com diâmetro menor que o comprimento do estipe2                          |
|---|
| 2. Lamelas subdistantes   |
| 3. Basidioma robusto e velutino, estipe longo (35-140 mm compr.),                 |
| crescendo a partir de um pseudoesclerócio   |
| 3'. Basidioma pequeno finamente velutino, estipe curto (25–40 mm                  |
| compr.); pode ou não apresentar pseudoesclerócio                                  |
| 2'. Lamelas bifurcadas a numerosas  |
| 4. Basidioma pequeno com estipe medindo 14–24 mm compr. <i>P</i> . cf.            |
| tephroleucus  |
| 4 <sup>'</sup> . Basidioma grande com estipe medindo 30–65 mm compr               |
| 5. Estipe liso; Pleurocistídios estreitamente utriforme e septiforme . <b>P</b> . |
| fulvus  |
| 5'. Estipe noduloso; Pleurocistídios fleuxosos de ápice subcaptado e              |
| clavados  |
| 1'. Píleo com diâmetro maior que o comprimento do estipe                          |
| 6. Píleo glabro, esquâmulas restritas a porção central                            |
| 6'. Píleo piloso, esquâmulas ausentes   |
| 7. Basidiósporos grandes 6.5–11.5 (–12) × 4.0–5.5 (–6.0) $\mu$ m, de parede       |
| levemente espessa   |
| 7' Basidiósporos pequenos $4.5-7.5 \times 2.5-4.0 \mu m$ , de parede fina         |
| 8. Pleurocistídios de parede espessa ausente.                                     |
| 8'. Pleurocistídios de parede espessa presente                                    |
| 9. Píleo densamente tomentoso   |
| 9'. Píleo glabrecente com poucos pêlos isolados10                                 |
| 10. Basidioma pequeno (10-20 mm diâm.); basidiósporos                             |
| elipsoides a cilíndricos 5.0–6.5 (–7.0) $\times$ 2.5–4.0 <i>P. parvus</i>         |
| 10 <sup>°</sup> . Basidioma grande (18–62 mm diâm.); basidiósporos                |
| elipsoides $5.0-7.5 \times 3.0-4.0 \ \mu m$                                       |

#### Agradecimentos

Os autores agradecem ao Parque Nacional da Chapada dos Guimarães (Mato Grosso, Brasil), Floresta Nacional de Caxiunã (Pará, Brasil), Parque Municipal da Lagoa do Peri (Santa Catarina, Brasil), Parque Muncipal do Córrego Grande (Santa Catarina, Brasil) e Unidade de Conservação de Desterro (Santa Catarina, Brasil), pela permissão para amostragem de coleções e herbários citados (FLOR, PACA e SP); a Carlos Alberto Salvador-Montoya pela ajuda em algumas análises filogenéticas; aos colegas do micolab-UFSC e a Viviane de Oliveira Garcia por fornecerem coleções; e a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) por fornecer bolsa de mestrado a D. K. S. Guimarães.

#### Referências

- BENSON, D. A.; KARSCH-MIZRACHI, I.; LIPMAN, D. J.; OSTELL, J.; WHEELER, D. L. 2005. GenBank. Nucleic Acids Research, p. 33.
- BOLANOS, J.; DE LEON, L.; OCHOA, E.; DARIAS, J.; RAJA, H.; SHEARER, C.; MILLER, A.; VANDERHEYDEN, P.; PORRAS-ALFARO, A.; CABALLERO-GEORGE, C. 2015. Phylogenetic diversity of sponge-associated Fungi from the Caribbean and the Pacific of Panama and their in vitro effect on angiotensin and endothelin receptors. Mar. Biotechnol. 17(5): 533-564.
- BONONI, V. L. R.; OLIVEIRA, A. K. M.; QUEVEDO J. R.; GUGLIOTTA, A. M. 2008. Fungos macroscópicos do Pantanal do Rio Negro, Mato Grosso do Sul, Brasil. Hoehnea 35: 489–511.
- CASTRESANA, J. 2000. Selection of conserved blocks from multiple alignments for their use in phylogenetic analysis. Mol Biol Evol. Apr;17(4):540-52.
- CORNER, E. J. H. 1981. The agaric genera *Lentinus*, *Panus* and *Pleurotus* with particular reference to Malaysian species. Beih. Nova Hedw., v. 69, p. 1-169.
- DEREEPER, A.; GUIGNON, V.; BLANC, G.; AUDIC, S.; BUFFET, S.; CHEVENET, F.; DUFAYARD, J. F.; GUINDON, S.; LEFORT, V.; LESCOT, M. & CLAVERIE, J. M. 2008. Gascuel O. Phylogeny.fr: robust phylogenetic analysis for the nonspecialist. Nucleic Acids Res. W465-9.
- DOUANLA-MELI, C. & LANGER, E. 2010. Reassessment of phylogenetic species relationship of some lentinoid fungi with velutinate basidiomes based on partial 28S ribosomal RNA gene sequencing. Sydowia 62(1):23-35.
- DRECHSLER-SANTOS, E. R.; WARTCHOW, F.; COIMBRA, V. R. M.; GIBERTONI, T. B.; CAVALCANTI, M. A. Q. 2012. Studies on lentinoid fungi (*Lentinus* and *Panus*) from the semi-arid region of Brazil. The Journal of the Torrey Botanical Society, v. 139, p. 437-446.
- EDINBURGH, R. B. G. 1969. Flora of british fungi: colour identification chart.
- FLOUDAS, D., HIBBETT, D. S., 2015. Revisiting the taxonomy of *Phanerochaete* (Polyporales, Basidiomycota) using a four gene dataset and extensive ITS sampling. Fungal Biology 119: 679–71.

- FRØSLEV, T. G.; MATHENY, P. B.; HIBBETT, D. S. 2005. Lower level relationships in the mushroom genus Cortinarius (Basidiomycota, Agaricales): a comparison of RPB1, RPB2, and ITS phylogenies. Molecular Phylogenetics and Evolution 37: 602– 618.
- GARDES, M. & BRUNS, T. D. 1993. ITS primers with enhanced specificitybfor basidiomycetes-application to the identification of mycorrhizae and rusts. Molecular ecology 2 (2): 113-118.
- GÓES-NETO, A.; LOGUERCIO-LEITE, C.; GUERRERO, R.T. 2005. DNA extraction from frozen field-collected and dehydrated herbarium fungal basidiomata: performance of SDS and CTABbased methods. Biotemas 18(2): 19-32.
- GOMES-SILVA, A. C. & T. B. GIBERTONI. 2009a. Checklist of the aphyllophoraceous fungi (Agaricomycetes) of the Brazilian Amazonia. Mycotaxon 108: 319–322. ,http://mycotaxon.com/ resources/weblists.html.
- GOMES-SILVA, A. C. & T. B. GIBERTONI. 2009b. Revisão do herbário URM III. Novas ocorrências de Aphyllophorales (Basidiomycetes) para Amazonia brasileira. Rev. Bras. Bot. 31: 587–596.
- GARDES. M.; BRUNS T. D. 1993. ITS primers with enhanced specificity for basidiomycetous-application to the identification of mycorrhizae and rust. Molecular Ecology 2: 113 e 118.
- GRAND, E. A. 2004. Systematics and species concepts in the genera Lentinus Fr. and Panus Fr., with emphasis on the Lentinus tigrinus, L. crinitus and Panus lecomtei complexes [tese de doutorado]. Knoxville: Univ. Tennessee Press. 116 p.
- GUGLIOTTA, A. M.;GIBERTONI, T. B.; DRECHSLER-SANTOS, E.
  R.; SILVEIRA, R. M. B.; CHIKOWSKI, R .S.; PIRES, R. M.;
  MONTOYA, C. A. S.; SOUZA, J. F.; PALACIO, M.; REZENDE,
  D. H. C. 2015. Polyporales in Lista de Espécies da Flora do Brasil.
  Jardim Botânico do Rio de Janeiro.
  Disponivel em: <a href="http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB92498">http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil.j/FB92498</a>>. Acesso em: 11 de Junho de 2016.
- GUINDON, S.; DUFAYARD, J.F.; LEFORT, V.; ANISIMOVA, M.; HORDIJK, W.; GASCUEL, O. 2010. New Algorithms and Methods to Estimate Maximum-Likelihood Phylogenies: Assessing the Performance of PhyML 3.0. Systematic Biology, 59(3):307-21.

- HIBBETT, D. S. & VILGALYS, R. 1991. Evolutionary relationships of *Lentinus* to the Polyporaceae – Evidence from restriction analysis of enzymatically amplified ribosomal DNA. Mycologia, v. 83, p. 425-439.
- HIBBETT, D. S. & VILGALYS, R. 1993. Phylogenetic Relationships of *Lentinus* (Basidiomycotina) inferred from Molecular and Morphological Characters. Systematic Botany, v. 18, p. 409-433.
- HIBBETT, D. S.; GILBERT, L. B.; DONOGHUE, M. J. 2000. Evolutionary instability of ectomycorrhizal symbioses in basidiomycetes. Nature. 407: 506-508.
- HIBBETT, D. S. & BINDER, M. 2002. Evolution of complex fruiting body morphologies in homobasidiomycetes. *Proceedings of the Royal Society of London Series B.* 269: 1963-1969.
- HUSSEIN, J.; TIBUHWA, D. D.; MSHANDETE, A.; KIVAISI, A. 2014. Molecular phylogeny of saprophytic wild edible mushroom species from Tanzania based on ITS and nLSU rDNA sequences. Curr. Res. Environ. Appl. Mycol 4: 250-260.
- JUSTO, A.; MIETTINEN, O.; FLOUDAS, D.; ORTIZ-SANTANA, B.; SJÖKVIST, E.; LINDNER, D.; NAKASONE, K.; NIEMELÄ, T.; LARSSON, K. H.; RYVARDEN, L.; HIBBETT, D. S. 2017. A revised family-level classification of the Polyporales (Basidiomycota). Fungal Biolgy. 64p.
- KARUNARATHNA, S. C.; YANG, Z. L.; ZHAO, R.; VELLINGA, E.
  C.; BAHKALI, A. H.; CHUKEATIROTE, E.; HYDE, K. D. 2001.
  Three new species of *Lentinus* from northen Thailand. Mycological Progress, v. 10(4), p. 389-398.
- KATOH, S. 2013. MAFFT multiple sequence alignment software version 7: improvements in performance and usability. Molecular Biology and Evolution 30: 772-780.
- KEARSE, M.; MOIR, R.; WILSON, A.; STONES-HAVAS, S.; CHEUNG, M.; STURROCK, S.; BUXTON, S.; COOPER, A.; MARKOWITZ, S.; DURAN, C.; THIERER, T.; ASHTON, B.; MENTJIES, P.; DRUMMOND, A. 2012. Geneious Basic: an integrated and extendable desktop software platform for the organization and analysis of sequence data. Bioinformatics, 28(12): 1647-1649.
- KIRK, P. M.; CANNON, P. F.; MINTER, D. W.; STALPERS, J. A. 2008. Dictionary of the Fungi. 10th ed. CABI, Wallingford, UK, 771p.
- KÜHNER, R. 1980. Les Hyménomycètes agaricoides. Bulletin mensuel de la Societé Linnéenne de Lyon, numéro special. 49: 1-1027.

- KUMAR, S.; STECHER, G.; TAMURA, K. 2016. MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 7.0 for bigger datasets. Molecular Biology and Evolution, msw 054.
- KÜPPERS, H. 1979. Atlas de los colores. Ed. Blume. 161 p.
- LLEE, J. S. & LIM, Y. W. 2010. *Cerrena aurantipora* sp. nov. (Polyporaceae) from eastern Asia. Mycologia 102: 211–216.
- LECHNER, B. E., WRIGHT, J. E.; POPOFF, O. R. 2005. *Higroaster iguazuensis* sp. nov. and a new continental record for *Lentinus similis*. Mycotaxon 91: 9–14.
- LECHNER, B. E., WRIGHT, J. E.; POPOFF, O. R. 2006. New taxa and new records of fungi for Argentina from Iguazu National Park, Misiones. Fungal Div. 21: 131–139.
- MAIA, L. C. et al. 2015.Diversity of Brazilian Fungi. Rodriguésia, v.66, n.4, p.1033-1045. (DOI: 10.1590 / 2175-7860201566407).
- MEIJER, A. A. R. Macrofungos notáveis das Florestas de Pinheiro-do-Paraná. Colombo, Embrapa Florestas, 2008
- MIETTINEN, O. & LARSSON, K. H. 2011. *Sidera*, a new genus in Hymenochaetales with poroid and hydnoid species. Mycol. Progress 10: 131-141.
- MILLER, O. K. 1973. Mushrooms of North America. E. P. Dutton, New York, NY. 592p.
- MILLER, M. A.; PFEIFFER, W.; SCHWARTZ, T. 2010.Creating the CIPRES science gateway for inference of large phylogenetic trees. Em Proceedings of the Gateway Computing Environments Workshop (GCE). New Orleans, Louisiana, p. 1–8.
- MOSER, M. M. 1978. Key to *agaricus* and *boleti* (Polyporales, Boletales, Agaricales, Russulales). Fischer Verlag Stuttgart.
- NJOUONKOU A. L., MOSSEBO, D. C. & AKOA, A. 2013a. The genera *Lentinus* and *Panus* in the Dja Biosphere Reserve and its periphery, Cameroon. Kew Bull 68: 517–521.
- OTTO MIETTINENA,, LARSSONB, R. ,SJOKVIST, E. & KARL-HENRIK LARSSONC. 2012. Comprehensive taxon sampling reveals unaccounted diversity and morphological plasticity in a group of dimitic polypores (Polyporales, Basidiomycota. Cladistics 28, 251–270.
- PEGLER, D. N. 1975. The classification of the genus *Lentinus* Fr. (Basidiomycota). Kavaka, v. 3, p. 11–20.
- PEGLER, D. N. 1983. The genus *Lentinus:* A world monograph. Kew Bull. Add. Ser., v. 10, p. 1-281.

- PEGLER, D.N. 1997. The *agaricus* of São Paulo, Brazil. London (UK): Royal Botanic Gardens, Kew/HMSO.
- PEREIRA, A. B. 1988. O gênero *Pleurotus* (Fr.) Kummer no Rio Grande do Sul, Brasil. Caderno de Pesquisa: Série Botânica, (1) 1: 19–45.
- PILÁT, A. 1936. Revision der tropishen *Lentinus*-arten aus dem herbar des Botanichen Museums in Berlin-Dahlem. Ann. Mycol. 34: 108-140.
- POSADA, D. 2008. ModelTest: phylogenetic model averaging. Molecular Biology and Evolution 25: 1253-1256.
- PUTZKE, J. 1994. Lista dos fungos Agaricales (Hymenomycetes, Basidiomycotina) referidos para o Brasil. Caderno Pesquisa Série Botânica, 6:1-189.
- PUTZKE J. & PUTZKE, M. T. L. 2002. Os reinos dos fungos. Vol. 2. Editora da Universidade de Santa Cruz do Sul. 829p.
- RICK, J. 1938. Agaric Riograndenses. Lilloa: v. 2, p. 307- 312. F & HUELSENBECK JP. 2003. MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference undermixed models. Bioinformatics 19: 572-4.
- SAMBROOK, J., FRITSCH, E. F., & MANIATIS, T. 1989. Molecular Cloning: A Laboratory Manual (Ed, N., ed) Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- SINGER, R. 1986. The Agaricales in Modern Taxonomy. 4th ed. Koeltz Scientific Books, Koeningstein, Germany. 918p.
- SJÖKVIST E., LARSSON, E., EBERHARDT, U., RYVARDEN L., LARSSON K.H. 2012: Stipitate stereoid basidiocarps have evolved multiple times. Mycologia 104: 1046–1055.
- STAMATAKIS, A. 2014. RAxML Version 8: A tool for Phylogenetic Analysis and Post-Analysis of Large Phylogenies. Bioinformatics Advance Access.
- TEIXEIRA, A. R. 1946. Himenomicetos brasileiros III. Bragantia 6: 165–188.
- TEIXEIRA, A. R. 1995. Método para estudo das hifas do basidiocarpo de fungos poliporaceos. Manual nº 6. Instituto de Botânica, São Paulo.
- VARGAS-ISLA, R. Taxonomia, biologia e produção de semente-inóculo de *Panus strigellus*, um cogumelo comestível da Amazônia. 2012 (tese de doutorado. INPA: Manaus. 126p.
- VARGAS-ISLA, R.; CAPELARI, M.; MELONI, N.; NAGASAWA, E.; TOKIMOTO, K.; ISHIKAWA, N. K. 2015. Relationship between

*Panus lecomtei* and *P. strigellus* inferred from their morphological, molecular and biological characteristics. Mycoscience. 10.1016.

- VELLINGA, E. C. & NOORDELOOS, M. E. 2001. Glossary. In: Noordeloos ME, Kuyper ThW, Vellinga EC, eds. Flora agaricina neerlandica 5:6–11.
- WHITE, T. J.; BRUNS, T.; LEE, S.; TAYLOR, J. W. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: Innis MA, Gelfand DH, Sninsky JJ, White TJ (eds), PCR protocols: a guide to methods and applications. Academic Press Inc, New York, p. 315 e 322.
- ZMITROVICH, I. V. & KOVALENKO A. E. 2016. Lentinoid and polyporoid fungi, two generic conglomerates containing important medicinal mushrooms in molecular perspective. International Journal of Medicinal Mushrooms 18: 23–38.

### 5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Neste trabalho é apresentado uma nova combinação e a proposição de três novas espécies de *Panus*, descritas a partir de materiais coletados na Mata Atlântica da região Sul e Sudeste do Brasil.

Táxons com ampla variação morfológica e distribuição geográfica devem ser analisados com cuidado, pois podem representar complexos de espécies, algumas das quais podem até serem crípticas.

Não foi possível estudar todas as espécies registradas como ocorrentes no Brasil por não ter sido encontradas na amostragem. O holótipo de *Panus convivales* (Corner) nunca foi revisado, e não houveram coletas rescentes destá espécie após sua descrição, requerendo uma análise para ter certeza se pertence a *Panus*.

A forma e tamanho dos pleurocistídos e queilocistídios se mostrou um carácter fundamental na delimitação de algumas espécies. Á vista disso, esse estudo ressalta a importância das análises morfológicas detalhadas em estudos futuros com o gênero e descrição de novos táxons.

A inclusão de amostras Neotropicais nas análises fiologenéticas moleculares utilizadas com o intuito de testar hipóteses morfológicas de espécies, é um aspecto que se destaca na execução deste estudo, posto que até o presente momento os trabalhos dedicados a taxonomia de *Panus* serem realizados com materiais oriundos principalmente da América do Norte e Asia. As análises morfológicas juntamente com os estudos filogenéticos *multiloci* são extremamente necessárias para apontar a real significância de caracteres usualmente utilizados na sistemática do gênero, além disso, irão contribuir com o conhecimento taxonômico e de distribuição do grupo.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BONONI, V. L. R.; OLIVEIRA, A. K. M.; QUEVEDO J. R.; GUGLIOTTA, A. M. 2008. Fungos macroscópicos do Pantanal do Rio Negro, Mato Grosso do Sul, Brasil. Hoehnea 35: 489–511.
- CORNER, E. J. H. 1981. The agaric genera *Lentinus, Panus* and *Pleurotus* with particular reference to Malaysian species. Beih. Nova Hedw., v. 69, p. 1-169.
- DRECHSLER-SANTOS, E. R.; WARTCHOW, F.; COIMBRA, V. R. M.; GIBERTONI, T. B.; CAVALCANTI, M. A. Q. 2012. Studies on lentinoid fungi (*Lentinus* and *Panus*) from the semi-arid region of Brazil. The Journal of the Torrey Botanical Society, v. 139, p. 437-446.
- GOMES-SILVA, A. C. & T. B. GIBERTONI. 2009a. Checklist of the aphyllophoraceous fungi (Agaricomycetes) of the Brazilian Amazonia. Mycotaxon 108: 319–322. ,http://mycotaxon.com/ resources/weblists.html.
- GOMES-SILVA, A. C. & T. B. GIBERTONI. 2009b. Revisão do herbário URM III. Novas ocorrências de Aphyllophorales (Basidiomycetes) para Amazonia brasileira. Rev. Bras. Bot. 31: 587–596.
- GUGLIOTTA, A. M.;GIBERTONI, T. B.; DRECHSLER-SANTOS, E.
  R.; SILVEIRA, R. M. B.; CHIKOWSKI, R .S.; PIRES, R. M.;
  MONTOYA, C. A. S.; SOUZA, J. F.; PALACIO, M.; REZENDE,
  D. H. C. 2015. Polyporales in Lista de Espécies da Flora do Brasil.
  Jardim Botânico do Rio de Janeiro.
  Disponivel em: <a href="http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB92498">http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil.j/FB92498</a>. Acesso em: 11 de Junho de 2016.
- HIBBETT, D. S. & VILGALYS, R. 1991. Evolutionary relationships of *Lentinus* to the Polyporaceae – Evidence from restriction analysis of enzymatically amplified ribosomal DNA. Mycologia, v. 83, p. 425-439.
- HUSSEIN, J.; TIBUHWA, D. D.; MSHANDETE, A.; KIVAISI, A. 2014. Molecular phylogeny of saprophytic wild edible mushroom species from Tanzania based on ITS and nLSU rDNA sequences. Curr. Res. Environ. Appl. Mycol 4: 250-260.
- JUSTO, A.; MIETTINEN, O.; FLOUDAS, D.; ORTIZ-SANTANA, B.; SJÖKVIST, E.; LINDNER, D.; NAKASONE, K.; NIEMELÄ, T.; LARSSON, K. H.; RYVARDEN, L.; HIBBETT, D. S. 2017. A revised family-level classification of the Polyporales (Basidiomycota). Fungal Biolgy. 64p.

- KARUNARATHNA, S. C.; YANG, Z. L.; ZHAO, R.; VELLINGA, E.
  C.; BAHKALI, A. H.; CHUKEATIROTE, E.; HYDE, K. D. 2001.
  Three new species of *Lentinus* from northen Thailand. Mycological Progress, v. 10(4), p. 389-398.
- KIRK, P. M.; CANNON, P. F.; MINTER, D. W.; STALPERS, J. A. 2008. Dictionary of the Fungi. 10th ed. CABI, Wallingford, UK, 771p.
- KÜHNER, R. 1980. Les Hyménomycètes agaricoides. Bulletin mensuel de la Societé Linnéenne de Lyon, numéro special. 49: 1-1027.
- KUMAR, S.; STECHER, G.; TAMURA, K. 2016. MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 7.0 for bigger datasets. Molecular Biology and Evolution, msw 054.
- KÜPPERS, H. 1979. Atlas de los colores. Ed. Blume. 161 p.
- LECHNER, B. E., WRIGHT, J. E.; POPOFF, O. R. 2005. *Higroaster iguazuensis* sp. nov. and a new continental record for *Lentinus similis*. Mycotaxon 91: 9–14.
- LECHNER, B. E., WRIGHT, J. E.; POPOFF, O. R. 2006. New taxa and new records of fungi for Argentina from Iguazu National Park, Misiones. Fungal Div. 21: 131–139.
- LLOYD, C. G. 1923. Mycological Notes 68. Mycol. Writ. 7:1169-1184, pl. 218-223.
- MAIA, L. C. et al. 2015.Diversity of Brazilian Fungi. Rodriguésia, v.66, n.4, p.1033-1045. (DOI: 10.1590 / 2175-7860201566407).
- MEIJER, A. A. R. Macrofungos notáveis das Florestas de Pinheiro-do-Paraná. Colombo, Embrapa Florestas, 2008
- MILLER, O. K. 1973. Mushrooms of North America. E. P. Dutton, New York, NY. 592p.
- MOSER, M. M. 1978. Key to *agaricus* and *boleti* (Polyporales, Boletales, Agaricales, Russulales). Fischer Verlag Stuttgart.
- PEGLER, D. N. 1975. The classification of the genus *Lentinus* Fr. (Basidiomycota). Kavaka, v. 3, p. 11–20.
- PEGLER, D. N. 1983. The genus *Lentinus:* A world monograph. Kew Bull. Add. Ser., v. 10, p. 1-281.
- PEGLER, D.N. 1997. The *agaricus* of São Paulo, Brazil. London (UK): Royal Botanic Gardens, Kew/HMSO.
- PEREIRA, A. B. 1988. O gênero *Pleurotus* (Fr.) Kummer no Rio Grande do Sul, Brasil. Caderno de Pesquisa: Série Botânica, (1) 1: 19–45.
- PILÁT, A. 1936. Revision der tropishen Lentinus-arten aus dem herbar des Botanichen Museums in Berlin-Dahlem. Ann. Mycol. 34: 108-140.
- POSADA, D. 2008. ModelTest: phylogenetic model averaging. Molecular Biology and Evolution 25: 1253-1256.

- PUTZKE, J. 1994. Lista dos fungos Agaricales (Hymenomycetes, Basidiomycotina) referidos para o Brasil. Caderno Pesquisa Série Botânica, 6:1-189.
- PUTZKE J. & PUTZKE, M. T. L. 2002. Os reinos dos fungos. Vol. 2. Editora da Universidade de Santa Cruz do Sul. 829p.
- RICK, J. 1938. Agaric Riograndenses. Lilloa: v. 2, p. 251-236; 307- 312; 3: 399-455.
- SINGER, R. 1986. The Agaricales in Modern Taxonomy. 4th ed. Koeltz Scientific Books, Koeningstein, Germany. 918p.
- SSACARDO, P. A. 1882-1931. Sylloge Fungorum. Pavia (johnson, New York, 1966) 25 vols.
- TEIXEIRA, A. R. 1946. Himenomicetos brasileiros III. Bragantia 6: 165–188.
- TEIXEIRA, A. R. 1995. Método para estudo das hifas do basidiocarpo de fungos poliporaceos. Manual nº 6. Instituto de Botânica, São Paulo.
- VARGAS-ISLA, R.; CAPELARI, M.; MELONI, N.; NAGASAWA, E.; TOKIMOTO, K.; ISHIKAWA, N. K. 2015. Relationship between *Panus lecomtei* and *P. strigellus* inferred from their morphological, molecular and biological characteristics. Mycoscience. 10.1016.
- VELLINGA, E. C. & NOORDELOOS, M. E. 2001. Glossary. In: Noordeloos ME, Kuyper ThW, Vellinga EC, eds. Flora agaricina neerlandica 5:6–11.
- ZMITROVICH, I. V. & KOVALENKO A. E. 2016. Lentinoid and polyporoid fungi, two generic conglomerates containing important medicinal mushrooms in molecular perspective. International Journal of Medicinal Mushrooms 18: 23–38.