

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DO SOLO**

**FUNGOS ECTOMICORRÍZICOS DO SUL DO BRASIL,
COM ÊNFASE NO HÁBITO HIPÓGEO**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Marcelo Aloisio Sulzbacher

Santa Maria, RS, Brasil

2010

FUNGOS ECTOMICORRÍZICOS DO SUL DO BRASIL, COM ÊNFASE NO HÁBITO HIPÓGEO

por

Marcelo Aloisio Sulzbacher

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo, Área de Concentração Biodinâmica e Manejo do Solo, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciência do Solo.**

Orientador: Prof. Dr. Rodrigo J. S. Jacques

Santa Maria, RS, Brasil

2010

S954f Sulzbacher, Marcelo Aloisio
Fungos ectomicorrízicos do sul do Brasil, com ênfase no hábito hipógeo /
/ por Marcelo Aloisio Sulzbacher. – 2010.
129 f. ; il. ; 30 cm

Orientador: Rodrigo Josemar Seminoti Jacques
Coorientador: Zaida Inês Antonioli
Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Santa Maria, Centro de
Ciências Rurais, Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo, RS, 2010

1 .Ciência do solo 2. Ectomicorrizas 3. Falsa-trufa 4. Eucalyptus
5. ITS rDNA I. Jacques, Rodrigo Josemar Seminoti II. Antonioli, Zaida Inês
III. Título.

CDU 631.4

Ficha catalográfica elaborada por Denise Barbosa dos Santos – CRB 10/1756
Biblioteca Central UFSM

**Universidade Federal de Santa Maria
Centro de Ciências Rurais
Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo**

A Comissão Examinadora, abaixo assinada,
aprova a Dissertação de Mestrado

**FUNGOS ECTOMICORRÍZICOS DO SUL DO BRASIL, COM ÊNFASE
NO HÁBITO HIPÓGEO**

elaborada por
Marcelo Aloisio Sulzbacher

como requisito parcial para obtenção do grau de
Mestre em Ciência do Solo

COMISSÃO EXAMINADORA:

Prof. Rodrigo J. S. Jacques, Dr. (UFSM)
(Presidente/Orientador)

Prof. Admir J. Giachini, Dr. (UFSC)

Prof. Gilberto Coelho, Dr. (UFSM)

Santa Maria, 29 de outubro de 2010.

**“Não podemos ter medo dos confrontos...
até os planetas se chocam e do caos nascem às estrelas”.**

(Charles Chaplin)

Dedico

Aos meus pais, Elemo José Sulzbacher, Benilde Sulzbacher, que são meu porto seguro e inspiração para busca dos meus ideais. Meu reconhecimento e gratidão pela paciência, compreensão e apoio constante nesta jornada da vida.

Ao meu irmão Ricardo Sulzbacher, exemplo e referência ao longo de toda a minha vida.

AGRADECIMENTOS

Poder estar realizando este trabalho só foi possível graças a colaboração de muitas pessoas e, certamente não há como citar todos. Mas saibam todos que sou muito grato a cada um, de forma muito especial.

A Deus por iluminar meu caminho e pelas conquistas concedidas, tornando-me confiante a cada etapa superada.

A minha querida família, Elemo, Benilde, Ricardo, Regina e Arthur, pelos tantos anos de torcida, dedicação e para que este sonho se tornasse realidade, tiveram que suportar a minha ausência em vários momentos, meu muito obrigado!

“À Universidade Federal de Santa Maria, ao Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo e a CAPES pela oportunidade de realização do curso em uma instituição gratuita e de qualidade”.

À Professora Dra. Zaida Inês Antonioli, por ter acreditado no meu potencial desde o início e pela sua dedicação e orientação, me faltam palavras para expressar o meu profundo agradecimento à senhora!

Ao Professor Dr. Rodrigo J. S. Jacques, pela valiosa orientação e importantes ensinamentos científicos e pela amizade e apoio nas horas difíceis. Agradeço a oportunidade de poder ter sido seu orientado.

Aos Professores Dr. Admir J. Giachini e Dr. Gilberto Coelho, membros da comissão examinadora, que aceitaram colaborar nesta obra.

Ao corpo docente do Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo (PPGCS) que sem dúvida alguma colaboraram muito em meu crescimento profissional.

Devo aqui agradecer a duas pessoas que sempre acreditaram no meu potencial, Dr. Gilberto Coelho e Vagner Gularte Cortez, muito obrigado pelos estímulos científicos e por todos os ensinamentos científicos que a mim foram dados por vocês dois, vejo que pude amadurecer muito profissionalmente com os auxílios de ambos.

A família de Gilberto Coelho: Greice e Ítalo, e também a família de Vagner Gularte Cortez: Cibéli (Béli), Elisa (Lelê) e Ísis (Zê) por ter tornado tão agradável a minha passagem por Santa Maria, me fizeram sempre sentir “em casa”.

A minha namorada Mônica Stangarlin, pelo amor, carinho, compreensão nas etapas deste trabalho. Também agradeço profundamente a família Stangarlin: Seu Airton, Dona Flora, Avó Santina, Márcio e Jaqueline, pelo convívio e por toda a força que vocês sempre me deram desde o início, vocês são pessoas abençoadas.

Aos amigos que tiveram uma grande importância para a realização desta dissertação: Adriano Afonso Spielmann, Cecília Dorfey, Diego Pascoal Golle, Eduardo Nouhra, Fábio Pacheco Menezes, Felipe Wartchow, Gilberto Coelho, Jair Putzke, Juçara Bordin, Manoeli Lupatini, Olinto Liparini Pereira, Patrícia Jungbluth, Ricardo e Gerusa Steffen, Tine Grebenc, Vagner Cortez.

Aos colegas do Laboratório de Biologia do Solo: Daniel Pazzini, Deisy Morales, Diego Pascoal Golle, Fabio Pacheco Menezes, Gerusa Steffen, Manoeli Lupatini, Matheus Pontelli e Ricardo Steffen, pela amizade, fundamental ajuda, sugestões e apoio durante todo este trabalho. Sem vocês não seria possível concluir este trabalho. “Muito Obrigado”.

Aos bolsistas do Laboratório que sempre nos auxiliam nas atividades: Bruna Piaia, Edicarla Trentin, Falko König, Marcos Leandro, Natielo Almeida, Raquel Davila e Sabrina Dahmer.

Aos colegas da Pós-Graduação pela convivência, troca de idéias, discussão científica e amizade.

Aos meus colegas e amigos, Alexandre Doneda, Deisy Morales, Eduardo Lorensi, Elisandra Pocojeski, Eloi Paulus, Enrique Benitez, Juliana Lorensi, Julio Cesar Soares, Fernanda Stüker, Marta Doumer, Marciel Redin, Marta Dreschler, Natalia Haydee Riveros Ciancio, Viviane Capoane, muito obrigado pelos momentos.

Aos micólogos estrangeiros que atentamente contribuíram com idéias, informações e envio de literatura que foram fundamentais para a realização deste trabalho: Andrea C. Rinaldi e Ornella Comandini (Itália), Eduardo Nouhra (Argentina), Baldomero Moreno Arroyo e Gabriel Moreno (Espanha), Marisa Castro (Portugal), Neale Bougher (Austrália), Reinhard Agerer (Alemanha), Roy Halling (USA), Tine Grebenc (Eslovênia).

A todas as pessoas que de uma forma ou de outra colaboraram no desenvolvimento desta Dissertação e para a conclusão do curso de Mestrado.

RESUMO

Dissertação de Mestrado
Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo
Universidade Federal de Santa Maria

FUNGOS ECTOMICORRÍZICOS DO SUL DO BRASIL, COM ÊNFASE NO HÁBITO HIPÓGEO

Autor: Marcelo Aloisio Sulzbacher

Orientador: Rodrigo J. S. Jacques

Data e local da defesa: Santa Maria, 29 de outubro de 2010.

Os fungos representam um grupo de organismos extremamente importante nos ecossistemas terrestres. Entre as muitas funções por eles desempenhadas está a associação mutualística com as raízes dos vegetais, formando diferentes tipos de micorrizas. A maioria dos estudos realizados até o momento está principalmente focada nos fungos ectomicorrízicos epígeos, os quais ocorrem acima do solo. Por outro lado, os fungos ectomicorrízicos hipógeos, que vivem abaixo da superfície do solo, são ainda pouco estudados. A presente pesquisa tem como objetivo estudar a diversidade de fungos ectomicorrízicos hipógeos (*Basidiomycetes*) coletados em plantações de *Eucalyptus* spp. na Região Central do Rio Grande do Sul, Brasil, com base em características morfológicas e moleculares. O período de coleta dos fungos foi de maio de 2009 a julho de 2010. Um total de cinco espécies pertencentes a três famílias foram identificadas. Este material foi analisado para verificar suas características morfológicas e moleculares. Dentre as espécies identificadas estão: *Chondrogaster pachysporus* Maire, *Descomyces albus* (Berk.) Bougher & Castellano, *Hysterangium affine* Masee & Rodway in Masee, *Hysterangium inflatum* Rodway e *Setchelliogaster tenuipes* (Setch.) Pouzar. Adicionalmente identificou-se uma segunda espécie de *Chondrogaster* sp. porém não se chegou a uma espécie conhecida, acreditando tratar-se de uma espécie ainda desconhecida para a ciência. Dentre as espécies estudadas, destacam-se a *Descomyces albus* que é citada pela primeira vez para o Estado do Rio Grande do Sul, *Hysterangium affine* e *H. inflatum* que têm sua ocorrência registrada pela primeira vez no Brasil, além de *Chondrogaster packysporus* citado pela primeira vez para a América do Sul.

Palavras-chave: ectomicorrizas, falsa-trufa, *Eucalyptus*, ITS rDNA

ABSTRACT

Dissertation of Master's degree
Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo
Universidade Federal de Santa Maria

ECTOMYCORRHIZAL FUNGI FROM SOUTHERN BRAZIL, WITH EMPHASIS ON THE HYPOGEOUS HABIT

Author: Marcelo Aloisio Sulzbacher

Advisor: Rodrigo J.S. Jacques

Date and Place of Defense: Santa Maria, October 29th, 2010.

Fungi represent an extremely important group of organisms in terrestrial ecosystems. Among their several important ecological roles, is the mutualistic association with plant roots, forming different types of mycorrhiza. Most studies carried out so far focused on epigeous ectomycorrhizal fungi, which occur above ground. On the other hand, below ground, hypogeous ectomycorrhizal fungi, are still poorly studied. This research aimed to study the diversity of hypogeous ectomycorrhizal fungi (*Basidiomycetes*) collected in *Eucalyptus* spp. plantations in the Central Region of Rio Grande do Sul, Brazil, based on morphological and molecular characters. Samples were taken between May 2009 and July 2010. A total of five species belonging to three families were identified. The material was analyzed to determine the morphological and molecular characters. Among the species identified are: *Chondrogaster pachysporus* Maire, *Descomyces albus* (Berk.) Bougher & Castellano, *Hysterangium affine* Masee & Rodway in Masee, *Hysterangium inflatum* Rodway and *Setchelliogaster tenuipes* (Setch.) Pouzar. Additionally a second species of *Chondrogaster* sp. was collected. However, no identity was determined for this species. Furthermore, it is believed it represents a new undescribed species to science. Among the species studied, *Descomyces albus* is reported for the first time in the State of Rio Grande do Sul. *Hysterangium affine* and *H. inflatum* are newly recorded species from Brazil while *Chondrogaster pachysporus* is recorded for the first in South America.

Key words: ectomycorrhiza, false-truffle, *Eucalyptus*, ITS rDNA

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 e 2 – Basidiomata of <i>Chondrogaster pachysporus</i>	73
Figura 3 a 5 – <i>Chondrogaster pachysporus</i> . 3. Peridium. 4. Basidia. 5. Gleba structure	74
Figura 6 a 8 – <i>Chondrogaster pachysporus</i> . 6. Immature basidiospores. 7. Mature basidiospores. 8. Details of the hymenium and trama.....	76
Figura 9 – Map of the State of Rio Grande do Sul showing the survey region.	80
Figura 10 a 12 – <i>Descomyces albus</i> . 10. Basidiospores. 11. Basidia. 12. Details of the peridiopellis showing the inner peridiopellis elements composed by two layers; outer layer with thick-walled, clamped hyphae; inner layer with hyaline and inflated hyphae.....	83
Figura 13 a 18 – <i>Setchelliogaster tenuipes</i> . 13. Basidiospores. 14. Basidia. 15. Cystidia. 16. Details of the subparallel stiptipellis surface. 17. Details of the peridiopellis. 18. Subparallel hymenophoral trama	86
Figura 19 a 24 – Rhizomorphs of <i>Setchelliogaster tenuipes</i> . 19. Details of the external surface with encrusted granular crystals. 20. Terminal hyphae. 21. Thicker hyphae with simple septa, clamps and brown contents. 22. Emanating hyphae. 23. Inflated hyphae. 24. Typical ampullate inflations at the hyphae.....	87
Figura 25 a 31 – <i>Hysterangium affine</i> . 25. Exoperidium. 26. Basidia. 27. Basidiospores. Fig. 28-30. <i>Hysterangium inflatum</i> . 28. Exoperidium. 29. Basidia. 30. Basidiospores. Fig. 31 – <i>Chondrogaster</i> sp., basidiospores.	92
Figura 32 a 38 – <i>Descomyces albus</i> . 32-33. <i>Setchelliogaster tenuipes</i> . 34-36. <i>Hysterangium affine</i> . 37. <i>Hysterangium inflatum</i> . 38.	93

Figura 39 a 46 – SEM images. *Descomyces albus*. 39-40. 39. Basidiospores. 40. Gleba. *Setchelliogaster tenuipes*. 41-44. 41-42. Basidiospores. 43. Ampullate hyphae of the rhizomorphs. 44. Details of the clamped hyphae. 45. Basidiospores of *Chondrogaster pachysporus*. 46. Collapsed basidiospores of *Hysterangium inflatum*..... 100

Figura 47 – Padrão de bandas obtidas pela amplificação da região ITS do rDNA dos isolados fúngicos: *Descomyces albus* (S199, S203, S223), *Setchelliogaster tenuipes* (S198), *Chondrogaster pachysporus* (S224) e *Chondrogaster* sp. (S205). Em C-, observa-se o controle negativo da reação de PCR. Na primeira coluna à esquerda, observa-se o *ladder* 1kb..... 105

Figura 48 – Dendrograma filogenético baseado no algoritmo *neighbor-joining* da região ITS do rDNA entre os isolados *Descomyces albus* (isolados S223, S199 e S203) e *Setchelliogaster tenuipes* S198 e organismos obtidos a partir do banco de dados *GenBank*. O número acima ou abaixo das ramificações representa o valor de *bootstrap* com base em 1000 replicatas..... 107

Figura 49 – Dendrograma filogenético baseado no algoritmo *neighbor-joining* da região ITS do rDNA entre os isolados *Chondrogaster pachysporus* S224 e *Chondrogaster* sp. S205 e os organismos obtidos no bando de dados *GenBank*. O número acima ou abaixo das ramificações representa o valor de *bootstrap* com base em 1000 replicatas..... 109

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO GERAL.....	14
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	16
2.1 Fungos Ectomicorrízicos.....	16
2.2 Fungos epígeos e hipógeos	18
2.3 Fungos ectomicorrízicos e sua importância.....	19
2.4 Características macromorfológicas dos fungos hipógeos e secotióides....	22
2.5 Características micromorfológicas dos fungos hipógeos	23
2.6 Estudo dos fungos ectomicorrízicos no Brasil	24
3 CAPÍTULO 2	
A LITERATURE-BASED CHECKLIST OF ECTOMYCORRHIZAL FUNGI FROM SOUTHERN BRAZIL	27
3.1 Abstract.....	27
3.2 Resumo	27
3.3 Introduction	28
3.4 Material and Methods.....	30
3.5 Results	30
3.6 Conclusion.....	62
3.7 Acknowledgements.....	62
3.8 References	62
4 CAPÍTULO 3	
<i>CHONDROGASTER PACHYSPORUS</i> IN A <i>EUCALYPTUS</i> PLANTATION OF SOUTHERN BRAZIL	69
4.1 Abstract.....	69
4.2 Resumo	69
4.3 Introduction	69
4.4 Material and methods.....	70
4.5 Results and discussion	71
4.6 Acknowledgments.....	73

4.7 References	74
----------------------	----

5 CAPÍTULO 4

MORPHOLOGICAL CHARACTERIZATION OF HYPOGEOUS FUNGI (TRUFFLE-LIKE FUNGI, BASIDIOMYCOTA) FROM <i>EUCALYPTUS</i> PLANTATIONS IN SOUTHERN BRAZIL	77
---	----

5.1 Abstract.....	77
-------------------	----

5.2 Resumo	77
------------------	----

5.3 Introduction	78
------------------------	----

5.4 Material and Methods.....	79
-------------------------------	----

5.5 Results	80
-------------------	----

5.6 Discussion	96
----------------------	----

5.7 Acknowledgements.....	97
---------------------------	----

5.8 References	97
----------------------	----

6 CAPÍTULO 5

DIVERSIDADE DE FUNGOS HIPÓGEOS ASSOCIADOS A <i>EUCALYPTUS</i> SPP. NO RIO GRANDE DO SUL USANDO SEQUÊNCIAS DE NUCLEOTÍDEOS DA REGIÃO ITS rDNA	101
--	-----

6.1 Resumo	101
------------------	-----

6.2 Introdução.....	102
---------------------	-----

6.3 Material e métodos.....	102
-----------------------------	-----

6.4 Resultados e discussão.....	104
---------------------------------	-----

6.5 Conclusões	109
----------------------	-----

6.6 Referências bibliográficas.....	110
-------------------------------------	-----

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS FUTURAS	112
---	-----

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	114
---------------------------------	-----

1 INTRODUÇÃO GERAL

Os fungos representam um grupo de organismos extremamente importante em todos os ecossistemas, atuando na ciclagem de diferentes nutrientes a partir da ação saprofítica resultante da decomposição de resíduos, principalmente de origem vegetal. Além disso, uma série de fungos está intimamente associada às raízes dos vegetais, formando micorrizas e promovendo grandes benefícios ao vegetal (PETERSON et al., 2004; SMITH; READ, 2008). Por outro lado, algumas espécies são patógenos potenciais de inúmeros vegetais, e outras, por serem patógenos de outros parasitas vegetais (nematóides, artrópodes e inclusive outros fungos) têm sido utilizados como recurso eficaz no controle biológico. Desse modo, os fungos são organismos de grande importância, dada a sua vasta aplicabilidade econômica e funções desempenhadas nos ecossistemas (ALEXOPOULOS et al., 1995).

Os benefícios decorrentes das associações das plantas simbiotes com fungos ectomicorrízicos são os mais variados e de grande importância para as plantas. Os fungos ectomicorrízicos retiram dos vegetais compostos orgânicos necessários à sua sobrevivência, enquanto isso, as plantas tornam-se mais bem nutridas e apresentam maior sobrevivência e longevidade no campo, pois as ectomicorrizas propiciam às plantas o aumento da absorção de nutrientes e água, além protegê-las contra patógenos e estresses ambientais (SMITH; READ, 2008).

São poucos os estudos que englobam o assunto da diversidade fúngica (microbiota) em nosso país. Apesar disso, é consenso entre os pesquisadores de todo mundo a importância de se conhecer a diversidade dos fungos nos países tropicais e subtropicais, onde encontra-se grande número das espécies ainda desconhecidas pela ciência (HAWKSWORTH 2001a, b; RINALDI et al., 2008). Cerca de 80.000 a 120.000 espécies de fungos foram descritas até o momento, embora o número total de espécies seja estimado em cerca de 1,5 milhões (HAWKSWORTH 2001a; WEBSTER; WEBSTER, 2007). Hawksworth (2001a) relata que, entre os anos 1990-1999, cerca de 60% das novas espécies descritas foram originárias de áreas tropicais e subtropicais. Rinaldi et al. (2008) estimaram que a riqueza de espécies ectomicorrízicas mundiais encontra-se em torno de 7.750 espécies. Contudo, este número pode chegar a 20.000 ou até 25.000 espécies, pois muitas regiões tropicais ainda necessitam ser estudadas. À luz do conhecimento de que nosso país detém a maior diversidade de espécies do planeta, Lewinsohn;

Prado (2005) estimaram cerca de 14.000 espécies de fungos e as pesquisas direcionam para um número superior a 200.000 espécies brasileiras. Em uma lista publicada recentemente, Forzza et al. (2010) englobaram 3.608 espécies de fungos para o Brasil, o que diminui o grande número publicado por Lewinsohn; Prado (2005).

Cabe salientar que, apesar da grande importância para manutenção dos ecossistemas naturais e do seu enorme potencial biotecnológico para melhoria da nutrição das plantas, em especial na recuperação de áreas degradadas e na incorporação de solos pobres na cadeia produtiva, há reduzido número de trabalhos sobre a diversidade dos fungos ectomicorrízicos no Brasil. Os estudos realizados até o momento estão principalmente focados nos fungos ectomicorrízicos epígeos, os quais ocorrem acima do solo. Por outro lado, os fungos ectomicorrízicos hipógeos, que vivem abaixo da superfície do solo, são ainda pouco estudados. Em vista das maiores dificuldades no estudo destes últimos, devido à dificuldade de visualização no campo e a necessidade de maior tempo e mão-de-obra para a retirada da serrapilheira e do solo, há ainda menor quantidade de pesquisas taxonômicas. O reduzido conhecimento da nossa biodiversidade fúngica, limita as possibilidades de utilização destes organismos na avaliação dos impactos ambientais causados em ecossistemas naturais e reduz a utilização destes em programas de desenvolvimento biotecnológico como, por exemplo, na disponibilização de novos fungos para micorrização de mudas florestais.

O ramo da taxonomia de fungos apresenta-se como uma ciência básica, que tem um papel estratégico de iniciar os estudos por meio da identificação das espécies de nossa diversidade para que futuros estudos relacionados à conservação, ao manejo e à biotecnologia possam ser desenvolvidos. Em vista da grande carência de pesquisas em taxonomia de fungos no nosso país, elaborou-se a hipótese de que as plantações de eucalipto da Região Central do Rio Grande do Sul apresentam grande diversidade de fungos ectomicorrízicos hipógeos ainda desconhecidos pela comunidade científica. Para testar esta hipótese, o presente trabalho teve como objetivo estudar a diversidade de fungos ectomicorrízicos hipógeos associados às plantações de *Eucalyptus* spp. na região Central do Rio Grande do Sul, com base em características morfológicas e moleculares daqueles organismos.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Fungos Ectomicorrízicos

As micorrizas são associações mutualísticas entre fungos e as raízes das plantas (BRUNDRETT et al., 1996). Acredita-se que esta associação simbiótica seja abundante e esteja presente em 75 a 86% das plantas (SMITH; READ, 2008; BRUNDRETT, 2009), totalizando cerca de 220.000 a 420.000 espécies de plantas, aproximadamente 2% do total das espécies conhecidas (TEDERSOO, 2009).

Já nas décadas de 70 e 80, pesquisadores reconheciam a importância das micorrizas como um fator essencial para a colonização do ambiente terrestre pelas plantas (PIROZYNSKY; MALLOCH, 1975; PIROZYNSKY, 1981). Sete tipos de associações micorrízicas são conhecidas: a) micorrizas arbúsculo-vesiculares (MAV) – também chamadas de micorrizas arbusculares (MA); b) ectomicorrizas (ECM); c) ectendomicorrizas; d) orquidóides; e) ericóides; f) monotropóides; e g) arbutóides (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006; BRUNDRETT et al., 1996). As micorrizas arbusculares e as ectomicorrizas são consideradas as de maior importância econômica (CARNEIRO et al., 1998).

Os fungos ectomicorrízicos são muito importantes nos ecossistemas, pois sua associação mutualística com plantas de diferentes espécies auxilia na absorção de nutrientes minerais, água e na proteção da planta simbiote em relação aos patógenos e estresses abióticos e bióticos, também como as interações microbianas e com outros organismos do solo (SMITH; READ, 2008; BRUNDRETT, 2009). Nos ecossistemas florestais, o papel das ectomicorrizas é ainda mais pronunciado, atuando fortemente nos ciclos biogeoquímicos, na dinâmica das comunidades vegetais e na manutenção da estrutura do solo (RILLIG; MUMMEY, 2006; MORRIS et al., 2009).

Diferente do que se observa em micorrizas arbusculares, nas ectomicorrizas as células fúngicas não penetram na parede celular da planta, mas distribuem-se no espaço intercelular, formando uma malha na epiderme e córtex da raiz, denominada de rede de Hartig. Além disso, formam um revestimento derivado desta rede em

torno da raiz, o qual recebe o nome de manto (PETERSON et al., 2004; WANG; QIU, 2006), bem como possuem a capacidade de estender suas hifas formando as rizomorfas e desta maneira explorar mais amplamente o ambiente, favorecendo a obtenção de nutrientes. Desta forma, o aporte de água e nutrientes pode ser realizado para as plantas simbiotes, auxiliando no crescimento e desenvolvimento das mesmas (NARA; HOGETSU, 2004), enquanto as ectomicorrizas recebem em troca substâncias oriundas dos fotossintatos da planta.

Em sua grande maioria, os fungos ectomicorrízicos pertencem ao filo *Basidiomycota*, destacando-se os gêneros *Amanita*, *Hebeloma*, *Hysterangium*, *Laccaria*, *Lactarius*, *Rhizopogon*, *Russula*, *Scleroderma*, *Suillus*, *Tricholoma*, entre outros (VELLINGA et al., 2009). A associação destes fungos às espécies florestais cultivadas, como por exemplo os gêneros *Pinus*, *Eucalyptus* e *Acacia*, têm sido consideradas como extremamente favorável. De acordo com Nara; Hogetsu (2004), o papel das ectomicorrizas é fundamental na recuperação de áreas impactadas ambientalmente, como é o caso de muitas áreas do bioma Pampa, que por possuir a predominância de solos arenosos, apresenta grande susceptibilidade à ação humana, as ectomicorrizas podem atuar na melhor absorção de nutrientes como Cu, Mg e Zn (SILVA et al., 2003).

Somente com a caracterização morfológica de ectomicorrizas pode-se gerar resultados satisfatórios no conhecimento da biodiversidade de espécies dos campos sulinos e até mesmo no conhecimento de espécies ainda não catalogadas. Entretanto, o uso de caracteres fenotípicos normalmente não permite a identificação clara e, pode inclusive, impossibilitar a distinção, em alguns casos, entre diferentes “isolados” e diferentes espécies (GOMES et al., 2002). Uma importante ferramenta em estudos de biodiversidade de ectomicorrizas tem sido a biologia molecular, conforme demonstram Gomes et al. (2002); Haung et al. (2005); Kwasna et al. (2008); Morris et al. (2009); Suvi et al. (2010) e Tedersoo et al. (2007, 2008). Estes cientistas utilizaram técnicas moleculares, especialmente ferramentas baseadas no sequenciamento do espaço interno transcrito (*internal transcribed spacer* – ITS) do rDNA de fungos, auxiliando na caracterização das espécies e na avaliação da variabilidade genética.

2.2 Fungos epígeos e hipógeos

Uma das características dos fungos ectomicorrízicos é a baixa diversidade de plantas simbiontes, o que é inversamente proporcional a diversidade de espécies. Além disso, este fator difere do que se observa em fungos micorrízicos arbusculares (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006). A identificação de ectomicorrizas em plantações florestais limita-se normalmente ao levantamento de fungos cujas estruturas reprodutivas têm hábito epígeo (GIACHINI et al, 2000), onde as frutificações são facilmente detectadas na superfície do solo ou em outros substratos, como madeira. Incluem-se nesta categoria os fungos chamados vulgarmente de cogumelos, fungos-coralóides, entre outras denominações, como ocorre com espécies dos gêneros *Amanita*, *Laccaria*, *Lactarius*, *Pisolithus*, *Ramaria*, *Telephora*, além de inúmeras outras espécies muito frequentes em nosso país. Porém, é provável que uma grande variedade de fungos de hábito hipógeo também ocorram colonizando as plantas de interesse florestal. Estes fungos são caracterizados por produzir seus ascomas e basidiomas abaixo do solo (BRUNDRETT et al., 1996; MOREIRA; SIQUEIRA, 2006). Fungos hipógeos incluem espécies dos filos *Basidiomycota* e *Ascomycota*, que podem ser dispersos no solo por animais, conforme relatos de países de clima temperado (CASTELLANO et al., 1989). Alguns gêneros de fungos ectomicorrízicos que apresentam o hábito hipógeo são *Alpova*, *Chondrogaster*, *Descomyces* e *Hysterangium*.

Além das definições de fungos epígeos e hipógeos, cabe destacar outros termos e definições para certos grupos fúngicos geralmente referidos no grupo dos fungos hipógeos, entre os quais, o uso do termo trufa. Este termo refere-se aos membros hipógeos do gênero *Tuber*, do filo *Ascomycota*, que são as verdadeiras trufas; no entanto, outros fungos hipógeos (*Ascomycota* e *Basidiomycota*) também sejam, algumas vezes, chamados de trufas (BRUNDRETT et al., 1996). Porém, o termo trufa só pode ser empregado para regiões onde estes fungos associam-se com as árvores de carvalho (*Quercus* spp.), o que não é o caso do Brasil. Fungos-semelhantes-a-trufas (*truffle-like-fungi*) são fungos hipógeos do filo *Basidiomycota* e que não estão associados a espécies de carvalho. Fungos denominados como “sequestrados”, referem-se aos fungos que possuem esporos e estes não se desprendem dos basídios, sendo que os corpos de frutificação permanecem

fechados até a maturidade (BOUGHER; LEBEL, 2001). Todavia, englobam formas historicamente descritas como secotióides ou gasteróides, assim como formas agaricóides, onde os basidiomas apresentam um himenóforo completamente fechado (véu universal). Contudo, em seu interior, ocorrem lamelas imperfeitas ou anastomosadas, o que caracteriza uma forma intermediária, conhecida como secotióide (FRANCIS; BOUGHER, 2004; THIERS, 1984). Estudos de filogenia molecular têm revelado uma base extensivamente polifilética destas formas (agaricóides, gasteróides, secotióides), antes reunidas em determinadas famílias, e atualmente inseridas entre o filo *Pezizomycotina* e a classe *Agaricomycetes* (HIBBETT, 2006; HOSAKA et al., 2006, 2008; MATHENY et al., 2006; ORIHARA et al., 2010).

2.3 Fungos ectomicorrizicos e sua importância

Frente a enorme diversidade que engloba o grupo dos fungos ectomicorrizicos, as espécies dos gêneros *Hysterangium*, *Rhizopogon* e *Scleroderma* destacam-se como importantes recursos biotecnológicos em solos florestais. As espécies destes e de outros gêneros são foco de estudos relativos à sua aplicabilidade na silvicultura (BRUNDRETT et al., 1996; CAIRNEY; CHAMBERS, 1999), os quais podem ser utilizados para a melhoria da qualidade de produção de mudas em grande escala e no estabelecimento de espécies florestais a campo, favorecendo a absorção de água e nutrientes (CAIRNEY; CHAMBERS, 1999). Porém, sabe-se que as ectomicorrizas são organismos bastante específicos em relação ao seu simbiote (HALLING, 2001). Molina et al. (1992) e Oliveira et al. (1994) relataram que esta especificidade pode ser manifestada entre gêneros. A observação deste fenômeno a campo foi realizada através da detecção da presença de basidiomas em áreas habitadas por determinadas comunidades de plantas. Verificou-se que determinados fungos, como os gêneros *Russula* e *Laccaria*, apresentam um grande espectro de simbiontes vegetais, associando-se a várias famílias de plantas; enquanto gêneros como *Rhizopogon* e *Suillus* associam-se a apenas uma ou poucas famílias de plantas (*Pinaceae*) (MOLINA et al., 1992).

No gênero *Eucalyptus*, por exemplo, há especificidade entre algumas espécies e o gênero fúngico associado (COSTA et al., 2002).

Com relação a importância na ecologia e biogeografia, Vellinga et al. (2009), em um estudo sobre os padrões globais de introduções ectomicorrízicas, referiu que algumas plantas foram movidas por todo o mundo com seu sistema radicular intacto. Estas raízes podem ter abrigado fungos ectomicorrízicos e o transporte das plantas pode ter facilitado a introdução destes em novos ecossistemas. Pelo menos 200 espécies de fungos ectomicorrízicos dos filos *Ascomycota* e *Basidiomycota* foram movidas dos ambientes nativos para novos *habitats*. A maioria destas introduções está associada com plantações de *Pinus* e *Eucalyptus* no hemisfério Sul (GIACHINI et al., 2000; NOUHRA et al., 2008; VELLINGA et al., 2009).

A simbiose ectomicorrízica representa ecologicamente uma das mais proeminentes e cruciais associações mutualistas em *habitats* terrestres (RINALDI et al., 2008), a qual envolve principalmente espécies de simbiontes arbóreos de todo o mundo, especialmente nas regiões temperadas, nos ecossistemas boreais, bem como em grandes áreas florestadas de regiões tropicais e subtropicais (CAIRNEY; CHAMBERS, 1999; VERBEKEN; BUYCK, 2001).

Uma das linhas de pesquisa mais ativas na área das ectomicorrizas (ECM) é a busca pelo entendimento das causas e consequências da diversidade de espécies destes fungos (riqueza e composição das espécies) (RINALDI et al., 2008). A diversidade de fungos ECM é formada por uma complexa mistura de fatores bióticos e abióticos (RINALDI et al., 2008). Um importante fator biótico é a especificidade da planta simbiote ou a seletividade do fungo (ZHOU; HYDE, 2001).

O fator abiótico deve ser considerado tanto desde o do ponto de vista fitocêntrico quanto micocêntrico, isto é, enfatizando a diversidade de espécies de plantas com que uma espécie de fungo pode formar micorrizas (a planta como um simbiote compatível) ou as associações de fungos que fazem simbiose com determinados táxons de plantas, (MOLINA et al., 1992; RINALDI et al., 2008). Tendo em consideração a importância ecológica da seletividade de simbiontes por parte dos fungos micorrízicos, há estudos que descrevem que tais associações são salutares e podem contribuir para a melhor compreensão dos fatores ambientais que afetam a diversidade de espécies fúngicas ao longo da escala evolutiva e ecológica (RINALDI et al., 2008).

Historicamente, o conhecimento das associações ectotróficas ou seja, plantas que possuem associações com fungos ectomicorrízicos, é baseado em observações de campo, em especial, com determinados simbioses e seus fungos associados, uma prática exposta a elevado grau de incerteza científica (RINALDI et al., 2008). Estudos que comprovam a associação ectomicorrízica vêm sendo desenvolvida em grande parte, seguindo-se as diretrizes morfo-anatômica padronizadas por Reinhard Agerer (AGERER, 1987-2006; 1991).

Tedersoo (2009) recentemente elaborou uma ampla revisão sobre a diversidade global, distribuição e linhas evolutivas das ectomicorrizas com base em estudos anatômicos e moleculares. Neste trabalho, o autor tratou da necessidade de se estudar com mais atenção os fungos ectomicorrízicos da América do Sul, permitindo melhorar a compreensão de sua biogeografia. Relatou ainda que muitos dos estudos já feitos envolvendo o grupo dos fungos ectomicorrízicos não utilizaram técnicas moleculares, que nos dias atuais são de fundamental importância para a confirmação do fungo com seu simbiote e que atualmente novas ferramentas baseadas em biologia molecular e bioinformática têm facilitado a análise filogenética destes fungos.

No tocante aos fungos hipógeos, pode-se afirmar que a sua distribuição é pouco compreendida mundialmente (MORENO-ARROYO et al., 2005). Este estudo está mais voltado aos países Europeus e Norte Americanos. Escassas são as pesquisas nos trópicos e subtropicais, sendo até mesmo arriscado lançar alguma hipótese sobre a distribuição e abundância destes fungos naqueles locais (MORENO-ARROYO et al., 2005).

Hosaka et al. (2008) em um estudo sobre a distribuição global de um grupo de fungos hipógeos (ECM), em especial *Hysterangiales*, fez uma análise minuciosa sobre as atuais compreensões da evolução das características ecológicas e morfológicas deste grupo e mostra que muitos gêneros possuem distribuição Austral ou Australiana.

Cabe também relatar o interessante método que muitos dos fungos hipógeos possuem de dispersão dos seus esporos. Estes produzem um aroma único, capaz de atrair pequenos animais micofágicos (TRAPPE et al., 2009), especialmente roedores (HOSAKA et al., 2008; CASTELLANO et al., 1989). Como este aroma é perceptível apenas por certos animais, são utilizados porcos e cães para a busca de trufas em países europeus (MORENO-ARROYO et al., 2005); mas, esta prática é

pouco comum em países tropicais e subtropicais. Não obstante, esta relação é bastante comum e compreendida em países da América do Norte (TRAPPE et al., 2009) e Austrália (CLARIDGE, 2002; JUMPPONEN et al., 2004), apresentando grande importância no manejo ambiental.

Fungos hipógeos também proporcionam inúmeros benefícios aos ambientes florestais. O grande número de biomassa que determinados gêneros produzem (como, por exemplo, *Descomyces* e *Hysterangium*) faz destes importantes membros nas áreas florestais (CAIRNEY; CHAMBERS, 1999; CLARIDGE, 2002). Fatores como o clima (precipitação e temperatura), a topografia, o solo (pH, macro e micronutrientes, matéria orgânica, etc), os animais e plantas, a heterogeneidade de *habitats*, o fogo, o manejo e as práticas silviculturais são alguns dos aspectos que influenciam a distribuição, a diversidade e a abundância dos fungos hipógeos (BOUGHER; LEBEL, 2001).

Assim, há necessidade de se conhecer melhor a diversidade desses fungos nos ecossistemas brasileiros, e não apenas caracterizar e identificar as espécies, o que permitirá estabelecer relações entre os fatores bióticos e abióticos que influenciam na ocorrência destes fungos e na simbiose com as plantas hospedeiras e, desta maneira, relacionar a ocorrência de determinadas espécies de fungo com os ecossistemas específicos.

2.4 Características macromorfológicas dos fungos hipógeos e secotioides

Devido ao *habitat* subterrâneo, os fungos hipógeos não utilizam a livre exposição do himênio nem a projeção dos esporos para o ambiente, como ocorre com os fungos epígeos (*Basidiomycota*), necessitando com isto da adaptação dos elementos do himênio (MORENO-ARROYO et al., 2005). Nestes fungos, o estipe (pé) é vestigial ou, em alguns casos desaparece, pois não é necessário. Assim, um grande número de espécies de fungos hipógeos ou semi-hipógeos apresenta formas dos basidiomas globosa ou subglobosa, com uma camada externa de proteção (que geralmente é resistente) denominada de perídio, o qual engloba uma zona interna, que é chamada de gleba, onde os esporos são produzidos (MORENO-ARROYO et

al., 2005). Portanto, a estrutura externa básica dos fungos hipógeos compreende o perídio, a gleba e em alguns casos a base estéril.

O perídio geralmente encontra-se composto por duas camadas distintas, denominadas de exoperídio (mais externo) e endoperídio (mais interno). A gleba é a parte fértil (igual ao himênio dos fungos agaricóides) e nesta estrutura são formados os basídios que sustentam os esporos. A sua cor e forma são características importantes para diferenciação de determinados gêneros como, por exemplo, *Hysterangium* (gleba gelatinizada e geralmente esverdeada) e *Descomyces* (que apresenta lóculos). Outros tem lamelas anastomosadas (que caracterizam os fungos secotióides), como encontrado no gênero *Setchelliogaster*.

Fungos secotióides possuem relação evolutiva com certos fungos epígeos e hipógeos (cogumelos) dos filos *Ascomycota* e *Basidiomycota* apresentando um estipe verdadeiro, porém, um himenóforo fechado, o que caracteriza uma forma intermediária, secotióide (THIERS, 1984). O estipe sustenta o perídio e pode apresentar rizomorfias, subículo ou micélio basal, que possuem importância taxonômica e devem ser observados (junto com as demais características do fungo) na hora da coleta.

2.5 Características micromorfológicas dos fungos hipógeos

Muitos fungos hipógeos apresentam características microscópicas similares. Desta forma, há necessidade da realização de análises microscópicas, as quais podem revelar grandes diferenças entre os fungos analisados. Características como o tamanho, forma e ornamentação dos esporos, a estrutura do perídio e da trama da gleba, podem caracterizar facilmente determinados gêneros hipógeos (BRUNDRETT et al., 1996).

Microscopicamente, os esporos estão entre as estruturas de maior importância para a taxonomia tradicional. Nos esporos devem ser observadas as dimensões, a forma, a cor, a parede (espessura e ornamentação), a presença de apêndice e as reações químicas (BRUNDRETT et al., 1996). Já a gleba, por sua vez, é constituída por hifas que podem ser septadas ou ramificadas, possuindo paredes finas ou grossas. O perídio pode constituir-se de forma celular, globosa e/ou

hifal, e as hifas podem ser lisas ou apresentar incrustações de oxalato de cálcio, como observa-se na espécie *Hysterangium inflatum* Rodway ou apresentar espinhos. É necessário observar atentamente a posição do perídio para diferenciação das espécies, tarefa que nem sempre é fácil, pois a visualização desta estrutura deve ser feita em indivíduos jovens e de preferência em material fresco. Fatores ambientais, como a chuva, podem remover e destruir certas estruturas do perídio, o que vai dificultar a identificação do espécime.

2.6 Estudo dos fungos ectomicorrízicos no Brasil

Pesquisas envolvendo os fungos ectomicorrizicos (ECM) evoluíram muito nas últimas décadas. Uma visão global sobre a distribuição destes fungos é encontrada em Rinaldi et al. (2008) e Tedersoo et al. (2009). Em nível mundial, diversos estudos vêm sendo realizados. Na Europa, estudos de fungos hipógeos estão mais avançados, como observa-se em Pegler et al. (1993), Montechi; Sarasini (2000) e Moreno-Arroyo et al. (2005). Para os Estados Unidos da América os trabalhos de Arora (1986) e Trappe et al. (2009) são referências importantes. Para a Australasia Claridge (2002). Para o continente Africano destacam-se os estudos de Buyke et al. (1996), Verbeken (1996) e Verbeken et al. (2000). Para a região da Índia e do Sri Lanka pode-se citar Natarajan et al. (2005) e Pegler (1986). Porém, poucos são os estudos feitos na América do Sul (TEDERSOO, 2009): Para o Chile pode-se citar Garrido (1988). Para a Argentina, Becerra et al. (2002, 2005), Nouhra et al. (2008) e Singer; Digilio (1951). Para o Brasil, Meijer (2001), Giachini et al. (2000, 2004). E para as Guianas, Henkel et al. (2002).

Para o Brasil, o estudo dos fungos ECM está atualmente muito fragmentado e necessita urgentemente de mais pesquisas para que seja possível ter uma representatividade do atual estado de conhecimento destes organismos em nosso país. Os primeiros estudos feitos sobre os fungos ECM no Brasil foram os de Singer; Araújo (1979) e Singer et al. (1983) na região da Amazônia.

Trabalhos recentes englobando estes fungos em matas nativas e exóticas foram realizados em diferentes regiões do Brasil, e novas espécies e citações foram reportadas para a região Nordeste (GURGEL et al., 2008; MENOLLI et al., 2009;

WARTCHOW; MAIA, 2007; WARTCHOW et al., 2009; WARTCHOW; CAVALCANTI, 2010). No Sudeste por Pegler (1997) e Baseia; Milanez (2000; 2002).

No Sul do Brasil, as primeiras contribuições foram feitas pelo padre Johannes Rick durante a primeira metade do século XX. Rick é considerado o pai da Micologia Brasileira e uma lista de todas as suas publicações é encontrada em Fidalgo (1962), bem como em Mauhs (2000). A coleção de Rick é considerada ainda hoje como uma das mais importantes no âmbito continental sul-americano, tendo sido revisada por diversos especialistas de inúmeros grupos de fungos.

No Estado do Paraná, os fungos ECM junto com demais macrofungos foram referidos por Meijer e colaboradores com inúmeras contribuições para a ciência (BUYCK; MEIJER, 1999; MEIJER, 2001, 2006, 2008; WATLING; MEIJER, 1997). Para o Estado de Santa Catarina, Giachini e colaboradores realizaram um levantamento dos fungos ECM em plantações de *Pinus* e *Eucalyptus* referindo 49 espécies, sendo três delas inéditas para a ciência (GIACHINI et al., 2000). No Estado do Rio Grande do Sul várias espécies foram relatadas pelos seguintes autores: Cortez et al. (2008a, 2008b), Putzke et al. (1994), Putzke (1999), Rick (1961a, 1961b), Guzmán (1970) e Sobestiansky (2005), que também incluiu o Estado de Santa Catarina. Em 1950, Rolf Singer revisou algumas das espécies coletadas por Rick, sendo este estudo nomeado de *Fungi Rickiani* (SINGER, 1953).

Em uma lista de revisão das espécies de fungos *Agaricales* para o país, Putzke (1994) listou 1.011 táxons. Muitos dos gêneros relatados por este autor permanecem ignorados e, portanto, necessitam de estudos adicionais. Recentemente algumas listas de revisões foram publicadas e estas englobam fungos ECM. Para os fungos *Boletales*, Neves; Capelari (2007) referiram 20 gêneros e 70 espécies de *Boletales sensu* Kirk et al. (2001). Em uma compilação contemporânea de fungos gasteróides Trierveiler-Pereira; Baseia (2009) referiram 232 taxa (incluindo inúmeros sinônimos e registros duvidosos). Estas listagens nos oferecem informações básicas essenciais para futuros estudos de diversidade dos fungos no Brasil.

Face ao exposto, pode-se afirmar que o estudo dos fungos hipógeos ainda é escasso no Brasil, necessitando de novas pesquisas, que auxiliarão para o melhor conhecimento da biodiversidade destes organismos, corroborando com as necessidades de conservação ambiental. Conhecimentos importantes também podem ser gerados em termos de avaliação da variabilidade genética destes fungos

e da sua utilização na biotecnologia, tendo em vista o desenvolvimento de futuros programas de micorrização de espécies florestais, aplicações destes organismos como micobiocidas, antimicrobianos e aditivos nutracêuticos.

3 CAPÍTULO 2

A LITERATURE-BASED CHECKLIST OF ECTOMYCORRHIZAL FUNGI FROM SOUTHERN BRAZIL

3.1 Abstract

A first checklist of ectomycorrhizal and putative ectomycorrhizal fungi from southern Brazil (the States of Rio Grande do Sul, Santa Catarina and Paraná) is presented. The checklist is based on the available literature. Ectomycorrhizal status of listed species was assessed based on worldwide published data and, for some genera, deducted from taxonomic position of otherwise locally distributed species. A total of 133 species in 47 genera were recorded for this region, all accompanied with a brief distribution, habitat and substrate data. At least 30 collections were published only to the genus level and need further taxonomic review.

Key words – distribution, habitat, micorrhiza, southern Brazil

3.2 Resumo

Uma lista de revisão dos fungos ectomicorrízicos e possivelmente ectomicorrízicos do sul do Brasil (Estados do Rio Grande do Sul, Santa Catarina e Paraná) é apresentada pela primeira vez. A lista de revisão é baseada em informações disponíveis na literatura específica e o status da espécie, se micorrízica ou não, é baseado no conhecimento taxonômico dos gêneros. Ao todo, 133 espécies em 47 gêneros foram registradas nesta região, todas acompanhadas com informações sobre o local de distribuição, o *habitat* e dados do substrato. Pelo menos 30 coleções foram publicadas apenas ao nível de gênero, necessitando-se de estudos taxonômicos adicionais.

Palavras-chave – distribuição, *habitat*, micorrizas, sul do Brasil

3.3 Introduction

The study of the interaction between ectomycorrhizal fungi (ECM) and trees is well studied all around the globe but is still more advanced in Europe, North America and several tropical regions. In Brazil, however, little is known about the communities of fungi associated in these ectomycorrhizal symbioses. Among the studies of ectomycorrhizae conducted in Brazil, focusing both on native as well as exotic woody plants, we refer to the work of Singer; Araújo (1979) and Singer et al. (1983) in the Amazon region. Recent publications with surveys of ECM in exotic and native plantations throughout the country have contributed to the knowledge of this group in different areas of Brazil producing new records and newly described species (BASEIA; MILANEZ, 2000, 2002; GURGEL et al., 2008; MENOLLI et al., 2009; WARTCHOW; MAIA, 2007; WARTCHOW et al., 2009; WARTCHOW; CAVALCANTI, 2010). Recently, Neves; Capelari (2007) published a Brazilian checklist of *Boletales*, reporting 20 genera and 70 species belonging to *Boletales sensu* Kirk et al. (2001), excluding the *Sclerodermataceae*. In a recently published checklist of Brazilian gasteroid fungi, Trierveiler-Pereira; Baseia (2009) reported 232 taxa. Brazil is the fifth largest country in the world, with more than 8.5 million km². The country can be divided into tropical rainforests (primarily in the Amazon), as well as considerable areas of tropical savannas (the central Brazilian Cerrado) and seasonally dry tropical forest (mostly in the Caatinga). In these regions the climate is tropical, with high annual temperatures (FIASCHI; PIRANI, 2009). Brazil has two hotspots for the conservation of biodiversity, the Atlantic Forest and the Cerrado. The southern part of Brazil is characterized by two biomes, Atlantic Forest and Campos Sulinos or southern grasslands (FIASCHI; PIRANI, 2009). The first biome is characterized by high species diversity and high species endemism. The Atlantic forest includes different forest formations: dense ombrophilous forest, mixed ombrophilous forest (including *Araucaria* forest), seasonal deciduous and semi-deciduous forest, as well as pioneer vegetation (MEIJER, 2008; VELOSO et al., 1991). The Campos Sulinos is covered by open grassy formations, used as natural pastures (FIASCHI; PIRANI, 2009). In southern Brazil, with regard to mycological historical overview, the first contributions were made by the priest Johannes Rick (a full list of his publications is found in FIDALGO, 1962 and MAUHS, 2000), who collected primarily during the first half of the twentieth century. In the 1950s, Rolf Singer reviewed some of the species

collected by Rick, named Fungi Rickiani (SINGER, 1953). Several studies have added to the knowledge of this group in Brazil. Putzke (1994) has provided a checklist for the Brazilian *Agaricales*, listing 1.011 taxa. Many genera published by Putzke are still unaccounted and therefore need additional studies for status confirmation. In the State of Paraná, many ECM fungi were reported by Meijer in his studies of macromycetes (BUYCK; MEIJER, 1999; MEIJER, 2001, 2006, 2008; WATLING; MEIJER, 1997). In his study Meijer (2008) reports 37 potentially ectomycorrhizal species from mixed ombrophilous forests (including *Araucaria* forest). This number of species is based on taxonomic position or on specific data from the literature. In the State of Santa Catarina, Giachini et al. (2000) surveyed the ECM fungi associated to exotic *Pinus* and *Eucalyptus* plantations, reporting 49 taxa, including three new species. Later, Giachini et al. (2004) assessed the abundance and diversity of ECM fungi based on the collection of fruiting bodies in plantations of *Eucalyptus dunnii* and *Pinus taeda* also in the State of Santa Catarina. The state of Rio Grande do Sul was surveyed by several authors, each dealing with particular groups of basidiomycetes/macromycetes (CORTEZ et al., 2008a, 2008b, 2009; PUTZKE et al., 1994; PUTZKE, 1999; RICK, 1961a, 1961b; GUZMÁN, 1970; and SOBESTIANSKY, 2005, who included the state of Santa Catarina). Nowadays, systematics and taxonomy of ECM fungi have been under profound changes, mainly due to the use of molecular tools (BINDER; HIBBETT, 2002; BINDER; HIBBETT, 2006; HIBBETT et al., 1997; HIBBETT, 2006; HOSAKA et al., 2006; MATHENY et al., 2006; MONCALVO et al., 2002; TEDERSOO et al., 2009). However, data on these tropical and subtropical fungi are rarely available in these studies, compromising the knowledge about the identification and phylogenetic placement of those fungi. In view of the differences in climate, soil and vegetation in the southern part of Brazil with the rest of the country, this survey aims to provide information list of species on the diversity of the ECM fungi in the three states comprising southern Brazil – Paraná, Santa Catarina and Rio Grande do Sul. With this checklist we hope to provide gathered informations to facilitate future studies aiming on expanding and better understanding the systematics and biogeography of this important group of fungi.

3.4 Material and Methods

The present study is a compilation based on intensive literature survey and review of scientific articles citing species of putative ectomycorrhizal fungi from southern Brazil. Under the geographic term 'southern Brazil' we considered the States of Rio Grande do Sul, Santa Catarina and Paraná. For each species the presence in any of these states was recorded.

The ectomycorrhizal status for each species is based either on the description of ectomycorrhizae available in scientific papers or from the taxonomic position of the species. The ECM considerations are based on Rinaldi et al. (2008) and Tedersoo et al. (2009). Collections identified only to the genus level were also included in the checklist and their ectomycorrhizal status.

Genera and species are listed alphabetically according to the MycoBank database. Species author names are given as in the original publications. The distribution of each recorded species in the checklist, its general habitat requirements and known substrates were obtained from the literature. Names of the Brazilian States are abbreviated as follows: RS – Rio Grande do Sul, SC – Santa Catarina and PR – Paraná.

3.5 Results

Preliminary checklist of putative ectomycorrhizal fungi from southern Brazil

Alnicola spadicea (D.A. Reid) Bon

Distribution: PR – Rio Negro.

Habitat and substrate: planted *Salix*, terricolous.

Literature: Meijer (2001: 113; 2006: 11).

Amanita chrysoleuca Pegler

Distribution: PR – Antonina.

Habitat and substrate: dense ombrophilous forest, terricolous.

Literature: Meijer (2006: 11).

Amanita* cf. *crebresulcata Bas

Distribution: PR – Antonina.

Habitat and substrate: dense ombrophilous forest, terricolous.

Literature: Meijer (2006: 11).

Amanita grallipes Bas & de Meijer

Distribution: PR – Curitiba.

Habitat and substrate: mixed ombrophilous forest, seasonal semi-deciduous alluvial forest; terricolous.

Literature: Bas; Meijer (1993: 345); Meijer (2001: 112; 2006: 11; 2008: 44, 140).

Comments: Meijer (2008: 141) refers that *A. grallipes* belongs to sect. *Lepidella* subsect. *Vittadiniae* Bas. It is not known if *A. grallipes* is ectomycorrhizal, but many species in the subsect. *Vittadiniae* are most certainly non-ectomycorrhizal.

Amanita muscaria (L.: Fr.) Lam. sensu lato

Distribution: PR – Colombo; SC – Correia Pinto, Joinville, Três Barras; RS – Nova Petrópolis.

Habitat and substrate: plantation of *Pinus taeda*; terricolous.

Literature: Giachini et al. (2000: 1168); Guerrero; Homrich (1999: 39); Karstedt; Stürmer (2008: 1039); Meijer (2001: 113; 2006: 11; 2008: 142); Sobestiansky (2005: 442); Stijve; Meijer (1993: 322).

Amanita multisquamosa Peck

Distribution: SC – Correia Pinto.

Habitat and substrate: plantation of *Pinus taeda*, terricolous.

Literature: Giachini et al. (2000: 1168, as *A. pantherina* var. *multisquamosa* (Peck) Jenkins).

Amanita rubescens Pers.

Distribution: RS – Gramado.

Habitat and substrate: *Pinus*-plantation, terricolous.

Literature: Sobestiansky (2005: 443).

Amanita spissa (Fr.) Bertill.

Distribution: RS – locality unknown.

Habitat and substrate: unknown habitat, terricolous

Literature: Rick (1961a: 301).

Amanita sp.

Distribution: PR – locality unknown.

Habitat and substrate: 'restinga', probably terricolous

Literature: Meijer (2001: 112, as *Amanita* sp. A subg. *Amanita* sect. *Ovigerae*).

Austroboletus festivus (Singer) Wolfe

Distribution: PR – Paranaguá.

Habitat and substrate: 'restinga', terricolous.

Literature: Meijer (2001: 112); Singer et al. (1983: 137); Watling; Meijer (1997: 232).

Comments: This species is only putative ectomycorrhizal based on the growing that is closely to *Ocotea pulchella* Martius, but mycorrhizal connection has not been seen (WATLING; MEIJER, 1997: 232, 246). On the base of dicotyledonous trees recorded in the vicinity (*Hymenaea microphylla*, *Guettardia angelica*, *Eschweilera ovata*). There is a possibility for an ectotrophic association with *Hymenaea* (SINGER et al., 1983: 138).

Boletinellus exiguus (Singer & Digilio) Watling

Distribution: PR – Piraquara; RS – Sapiranga.

Habitat and substrate: dense ombrophilous forest, mixed ombrophilous forest; terricolous, occurring on dead as well as living wood.

Literature: Meijer (2001: 112; 2006: 12; 2008: 44, 130); Putzke, et al. (1994: 82, as *Gyrodon exiguus* Singer & Digilio); Watling; Meijer (1997: 243).

Comments: This species is only putative ectomycorrhizal (HALLING; MUELLER, 2005: 49), Singer et al. (1983: 47) in Watling; Meijer (1997: 243) since several species from the genus can alter root morphology (GRUHN et al., 1992) or are mycorrhizal (*Gyrodon*). However, no clear ectomycorrhizal association has been described for *B. exiguus* up to date. The non obligatory ectomycorrhizal status of *B. exiguus* is discussed in Meijer (2008: 130).

Boletinellus rompelii (Pat. & Rick) Watling

Distribution: PR – Curitiba, Piraquara, São José dos Pinhais; RS – Liberato Salzano, Nova Petrópolis, Parecí, São Leopoldo, Viamão.

Habitat and substrate: mixed ombrophilous forest, seasonal semi-deciduous alluvial forest; terricolous.

Literature: Meijer (2001: 112; 2006: 12; 2008: 44, 128); Putzke, et al. (1994: 81, as *Gyrodon rompelii* (Pat. & Rick) Sing.); Singer (1953: 101 as *Phylloporus rompelii* Pat. & Rick, 117 and 128 as *Gyrodon rompelii* (Pat. & Rick) Sing.; Singer & Digilio (1957: 256, as *Gyrodon rompelii* (Pat. et Rick) Sing.); Singer (1964: 118, as *Gyrodon rompelii* (Pat. & Rick) Sing.); Sobestiansky (2005: 443); Watling; Meijer (1997: 243).

Comments: This species is facultatively ectomycorrhizal with *Allophylus*. It was recorded near *Allophylus edulis* Radlk. and *Trichilia elegans* A. Juss. (WATLING; MEIJER, 1997: 243; MEIJER, 2008: 130) and near an *Inga* and *Allophylus edulis* Radlk. site (PUTZKE et al., 1994: 81). Singer (1953) referred to this species as occurring near *Acacia* woods, while its mycorrhizal condition was discussed by Singer et al. (1983).

Boletus edulis Bull.

Distribution: RS – Gramado.

Habitat and substrate: *Pinus*-plantation, terricolous.

Literature: Sobestiansky (2005: 443).

Calostoma zanchianum (Rick) Baseia & Calonge

Distribution: RS – Cachoeira do Sul.

Habitat and substrate: unknown habitat, roots

Literature: Baseia et al. (2006: 114; 2007: 278); Cortez (2009: 03); Rick (1961b: 456, as *Mitremyces zanchianus* Rick).

Comments: This species is putative ectomycorrhizal since its close relative *C. cinnabarinum* was proven to be mycorrhizal with oaks (WILLSON et al., 2007).

Cantharellus cf. **cinnabarinus** (Schwein.) Schwein.

Distribution: PR – Antonina, Morretes, São José dos Pinhais.

Habitat and substrate: mixed ombrophilous forest, dense ombrophilous forest, 'restinga'; standing trunks of living dicotyledonous trees.

Literature: Meijer (2001: 112; 2006: 13; 2008: 44, 372).

Cantharellus guyanensis Mont.

Distribution: PR – Campina Grande do Sul, Colombo, São José dos Pinhais.

Habitat and substrate: dense ombrophilous forest, mixed ombrophilous forest, unknown substrate.

Literature: Meijer (2006: 13; 2008: 372).

Comments: *C. guyanensis* is associated with the roots of *Glycoxylon inophyllum* and *Aldina heterophylla* forming ectomycorrhiza (a typical mantle and Hartig-net, white), possibly also with *Psychotria* and some *Sapindaceae* (SINGER et al., 1983: 16).

Cantharellus xanthoscyphus R. H. Petersen

Distribution: PR – Antonina, Quatro Barras.

Habitat and substrate: dense ombrophilous forest; terricolous, occurring on dead wood.

Literature: Meijer (2001: 112; 2006: 13).

Chalciporus piperatus (Bull.) Bataille

Distribution: PR – Curitiba; SC – Joinville, Três Barras.

Habitat and substrate: plantations of *P. taeda*; terricolous.

Literature: Giachini et al. (2000: 1168); Meijer (2001: 113; 2006: 13); Watling; Meijer (1997: 234, as potentially ectomycorrhizal); Karstedt; Stürmer (2008: 1039, as *Chalciporus* cf. *piperatus* (Bull.: Fr.) Bat.).

Chondrogaster angustisporus Giachini, Castellano, Trappe & V.L. Oliveira

Distribution: SC – Correia Pinto, Três Barras.

Habitat and substrate: plantations of *Eucalyptus dunnii*, terricolous.

Literature: Giachini et al. (2000: 1168).

Chondrogaster pachysporus Maire

Distribution: RS – Santa Maria.

Habitat and substrate: plantations of *Eucalyptus saligna*, terricolous.

Literature: Sulzbacher et al. (2010: 378).

Clavulina aff. **rugosa** (Bull.) J. Schröt.

Distribution: PR – Curitiba.

Habitat and substrate: mixed ombrophilous forest, terricolous.

Literature: Meijer (2006: 14; 2008: 372).

Comments: This species is putative ectomycorrhizal (MEIJER, 2008: 372).

Coltricia barbata Ryvarden & de Meijer

Distribution: PR – Antonina, Morretes, Paranaguá.

Habitat and substrate: dense ombrophilous forest, unknown substrate.

Literature: Meijer (2006: 15).

Coltricia cinnamomea (Jacq.) Murrill

Distribution: PR – Curitiba, Guaraqueçaba, São Mateus do Sul.

Habitat and substrate: mixed ombrophilous forest, seasonal semi-deciduous alluvial forest, 'restinga' seasonal semi-deciduous alluvial forest; terricolous, occurring also in living wood.

Literature: Meijer (2001: 113; 2006: 15; 2008: 372); Rajchenberg; Meijer (1990: 177, as *Coltricia duportii*).

Comments: This species is ectomycorrhizal (THOEN, 1993: 200).

Coltricia duportii (Pat.) Ryvarden

Distribution: PR – Morretes.

Habitat and substrate: dense ombrophilous forest, unknown substrate.

Literature: Meijer (2006: 15).

Comments: This species is putative ectomycorrhizal since several species in the genus are ectomycorrhizal (TEDERSOO et al. 2008).

Coltricia perennis (L.) Murrill

Distribution: PR – Lapa.

Habitat and substrate: *Pinus*-plantation, terricolous.

Literature: Meijer (2001: 113; 2006: 15).

Coltricia sp.

Distribution: PR – locality unknown.

Habitat and substrate: dense ombrophilous forest, occurring in living wood.

Literature: Meijer (2001: 113, as *Coltricia* sp. A (aff. *cinnamomea* (Jacq.) Murrill).

Coltricia sp.

Distribution: PR – locality unknown.

Habitat and substrate: dense ombrophilous forest; terricolous, occurring on dead wood.

Literature: Meijer (2001: 113, as *Coltricia* sp. B).

Coltriciella oblectabilis (Lloyd) Kotl., Pouzar & Ryvarden

Distribution: PR – Paranaguá.

Habitat and substrate: dense ombrophilous forest, 'restinga'; terricolous.

Literature: Meijer (2001: 113; 2006: 15); Rajchenberg; Meijer (1990: 178).

Cortinarius castaneofulvus Cleland

Distribution: SC – Três Barras.

Habitat and substrate: plantations of *Eucalyptus dunnii*, terricolous.

Literature: Giachini et al. (2000: 1168).

Cortinarius sp.

Distribution: PR – locality unknown.

Habitat and substrate: dense ombrophilous forest, seasonal semi-deciduous submontane/montane forest, mixed ombrophilous forest; terricolous, occurring on dead wood.

Literature: Meijer (2001: 112, as *Cortinarius* sp. A (subg. *Sericeocybe* P.D.Orton sect. *Pallidoviolaceae*); Meijer (2001: 112, as *Cortinarius* sp. B (subg. *Sericeocybe* sect. *Sericeocybe*); Meijer (2001: 112, as *Cortinarius* sp. C (subg. *Telamonia*); Meijer (2001: 112, as *Cortinarius* sp. D (subg. *Telamonia*); Meijer (2001: 112, as *Cortinarius* sp. E (subg. *Telamonia*).

Cortinarius sp.

Distribution: PR – Cerro Azul, Tunas do Paraná.

Habitat and substrate: mixed ombrophilous forest, unknown substrate.

Literature: Meijer (2006: 16, as *Cortinarius* sp. A (subg. *Sericeocybe* P.D.Orton sect. *Sericeocybe*).

Cortinarius sp.

Distribution: PR – Cornélio Procópio.

Habitat and substrate: seasonal semi-deciduous alluvial forest, unknown substrate.

Literature: Meijer (2006: 17, as *Cortinarius* sp. B (subg. *Sericeocybe* sect. *Pallidoviola* J.E. Lange); 2001: 112).

Descomyces albellus (Masse & Rodway) Bougher & Castellano

Distribution: SC – Correia Pinto; RS – Santa Maria.

Habitat and substrate: plantations of *Eucalyptus dunnii*, *Eucalyptus*-plantation; terricolous.

Literature: Giachini et al. (2000: 1168); Cortez et al. (2008a: 514).

Descomyces albus (Klotzsch) Bougher and Castellano

Distribution: SC – Correia Pinto.

Habitat and substrate: plantations of *Eucalyptus dunnii*, terricolous.

Literature: Giachini et al. (2000: 1168).

Descomyces giachinii Trappe, V.L. Oliveira, Castellano & Claridge

Distribution: SC – Correia Pinto.

Habitat and substrate: plantations of *Eucalyptus dunnii*, terricolous.

Literature: Giachini et al. (2000: 1168).

Entoloma bloxamii (Berk. & Broome) Sacc.

Distribution: PR – São José dos Pinhais, São Mateus do Sul.

Habitat and substrate: mixed ombrophilous alluvial forest, mixed ombrophilous montane forest; terricolous.

Literature: Meijer (2006: 19; 2008: 271, 372).

Comments: *Entoloma* species of sect. *Entoloma* are suspected of being ectomycorrhizal (Noordellos 2002, in MEIJER, 2008: 272).

Gloeocantharellus corneri (Singer) Corner

Distribution: PR – Campina Grande do Sul.

Habitat and substrate: dense ombrophilous forest, mixed ombrophilous forest; terricolous.

Literature: Meijer (2001: 112; 2006: 23; 2008: 372); Watling; Meijer (1997: 245).

Gyroporus castaneus (Bull) Quél.

Distribution: RS – Pelotas.

Habitat and substrate: planted *Quercus*, terricolous.

Literature: Putzke et al. (1994: 79).

Hebeloma sacchariolens Quél.

Distribution: PR – Almirante Tamandaré, Rio Negro; RS – Nova Petrópolis.

Habitat and substrate: pasture, *Pinus*-plantation, planted *Salix*; terricolous.

Literature: Meijer (2001: 113; 2006: 24); Sobestiansky (2005: 447, as *Hebeloma* cf. *sacchariolens* Quél.).

Hydnodon thelephorus (Lév.) Banker

Distribution: PR – Antonina, Campina Grande do Sul, Curitiba, General Carneiro, Mandirituba, Morretes, Piraquara, São José dos Pinhais, São Mateus do Sul; RS – Nova Petrópolis.

Habitat and substrate: dense ombrophilous forest, mixed ombrophilous montane forest, gallery forest in area of savanna; terricolous.

Literature: Meijer (2001: 113, as *Phellodon tenuis* Baird; 2006: 24; 2008: 89, 372); Sobestiansky (2005: 447).

Comments: This species is putative ectomycorrhizal. It was noted as “ectomycorrhizal?” according to Sobestiansky (2005: 447).

Hymenogaster vulgaris Tul. & C. Tul.

Distribution: RS – locality unknown.

Habitat and substrate: unknown habitat, terricolous.

Literature: Rick (1961b: 456).

Hysterangium australe Speg.

Distribution: RS – São Leopoldo.

Habitat and substrate: *Eucalyptus*-plantation, terricolous.

Literature: Rick (1961b: 457).

Hysterangium gardneri E. Fisch.

Distribution: SC – Correia Pinto, Três Barras.

Habitat and substrate: plantations of *Eucalyptus dunnii*, terricolous.

Literature: Giachini et al. (2000: 1168).

Inocybe australiensis Cleland & Cheel

Distribution: PR – São José dos Pinhais; SC – Correia Pinto.

Habitat and substrate: *Eucalyptus*-plantation, plantations of *Eucalyptus dunnii*; terricolous.

Literature: Giachini et al. (2000: 1168); Meijer (2001: 113; 2006: 26, both as *Inocybe* cf. *australiensis* Cleland & Cheel).

Inocybe aff. **cingulatipes** (Corner & E. Horak) Garrido

Distribution: PR – São José dos Pinhais.

Habitat and substrate: mixed ombrophilous forest, unknown substrate.

Literature: Meijer (2006: 26).

Inocybe aff. **conspicuospora** Buyck & Eyssart.

Distribution: PR – Fênix.

Habitat and substrate: seasonal semi-deciduous alluvial forest, unknown substrate.

Literature: Meijer (2006: 26).

Inocybe aff. **crassicystidiata** Pegler

Distribution: PR – Antonina.

Habitat and substrate: dense ombrophilous forest, unknown substrate.

Literature: Meijer (2006: 26).

Inocybe curvipes P. Karst.

Distribution: PR – Colombo, Curitiba; RS – Nova Petrópolis, Santa Maria.

Habitat and substrate: *Pinus*-plantation, terricolous.

Literature: Cortez; Coelho (2005: 71); Meijer (2001: 113; 2006: 26); Sobestiansky (2005: 448); Stijve; Meijer (1993: 321).

Inocybe hyperythra Rick

Distribution: RS – São Leopoldo.

Habitat and substrate: subtropical forest, terricolous.

Literature: Rick (1961a: 406, as *I. hypererythra* Rick); Singer (1953: 94); Singer et al. (1983: 181).

Comments: Mycorrhizal association and accompanying trees are unknown (SINGER et al., 1983: 182).

Inocybe aff. **incognita** (E. Horak) Garrido

Distribution: PR – Morretes.

Habitat and substrate: dense ombrophilous forest, unknown substrate.

Literature: Meijer (2006: 26).

Inocybe cf. **matrisdei** Singer

Distribution: PR – locality unknown.

Habitat and substrate: 'restinga', terricolous.

Literature: Meijer (2001: 112).

Comments: Its association with any particular tree and the full characteristics of the forest type have not been established (SINGER et al., 1983: 185).

Inocybe aff. **pahangi** (Corner & E. Horak) Garrido

Distribution: PR – Guaraqueçaba.

Habitat and substrate: 'restinga', unknown substrate.

Literature: Meijer (2006: 26).

Inocybe violaceolamellata Rick

Distribution: RS – São Leopoldo.

Habitat and substrate: unknown habitat; terricolous, mossy trunk.

Literature: Rick (1961a: 407); Singer (1953: 94).

Inocybe aff. **xerophytica** Pegler

Distribution: PR – Paranaguá.

Habitat and substrate: 'restinga', unknown substrate.

Literature: Meijer (2006: 26).

Inocybe sp.

Distribution: PR – locality unknown.

Habitat and substrate: dense ombrophilous forest, terricolous.

Literature: Meijer (2001: 112, as *Inocybe* sp. A (subg. *Inocybe* sect. *Inocybe*).

***Inocybe* sp.**

Distribution: PR – locality unknown.

Habitat and substrate: seasonal semi-deciduous submontane/montane forest, terricolous.

Literature: Meijer (2001: 112, as *Inocybe* sp. B (subg. *Inocybe* sect. *Inocybe*).

***Inocybe* sp.**

Distribution: PR – locality unknown.

Habitat and substrate: seasonal semi-deciduous submontane/montane forest, terricolous.

Literature: Meijer (2001: 112, as *Inocybe* sp. C (subg. *Inocybe* sect. *Petiginosae*).

***Inocybe* sp.**

Distribution: PR – locality unknown.

Habitat and substrate: 'restinga', terricolous.

Literature: Meijer (2001: 112, as *Inocybe* sp. D (subg. *Inocybe* sect. *Petiginosae*).

***Labyrinthomyces varius* (Rodway) Trappe**

Distribution: SC – Correia Pinto.

Habitat and substrate: plantations of *Eucalyptus dunnii*, terricolous.

Literature: Giachini et al. (2000: 1168).

***Laccaria amethystina* Cooke**

Distribution: SC – Correia Pinto.

Habitat and substrate: plantations of *Eucalyptus dunnii* and *Pinus taeda*; terricolous.

Literature: Giachini et al. (2000: 1168).

***Laccaria bicolor* (Maire) P.D. Orton**

Distribution: SC – Correia Pinto, Três Barras.

Habitat and substrate: plantations of *Eucalyptus dunnii* and *Pinus taeda*; terricolous.

Literature: Giachini et al. (2000: 1168).

Laccaria laccata (Scop.) Cooke var. **laccata**

Distribution: SC – Correia Pinto, Três Barras; RS – Canela, Ijuí, Pelotas, Porto Alegre, Rio Pardo, Santa Maria, Santa Vitória do Palmar, Vera Cruz.

Habitat and substrate: *Pinus*-plantation, and plantation of *P. taeda*, plantation of *Eucalyptus dunnii*; terricolous.

Literature: Giachini et al. (2000: 1168); Guerrero; Homrich (1999: 41); Putzke (1999: 09; 2003: 286, as *Laccaria laccata* (Scop.:Fr.) Ber. & Br.).

Laccaria laccata (Scop.) Cooke var. **pallidifolia** (Peck) Peck

Distribution: SC – Córrego Grande, Rio Vermelho, Três Barras.

Habitat and substrate: *Eucalyptus*-plantation, plantations of *Pinus elliottii* and *P. taeda*; terricolous.

Literature: Giachini et al. (2000: 1168).

Laccaria lateritia Malençon

Distribution: PR – Colombo, Curitiba, São José dos Pinhais; SC – Três Barras; RS – Barros Cassal, Nova Petrópolis, Porto Alegre, Rio Pardo, Salvador do Sul, São Francisco de Paula, Santa Cruz do Sul, Sinimbu, Vale do Sol, Venâncio Aires, Vera Cruz.

Habitat and substrate: *Eucalyptus*-plantation, plantation of *E. dunnii*; terricolous.

Literature: Giachini et al. (2000: 1168); Guerrero; Homrich (1999: 41, as *Laccaria fraterna*); Meijer (2001: 113; 2006: 27, both as *Laccaria fraterna* (Cooke & Masee) Pegler); Putzke (1999: 08; 2003: 283, both as *Laccaria fraterna* (Cooke & Mass.) Pegler); Rick (1961a: 329, as *Clitocybe laccata* Scop.); Singer (1953: 110, as *L. tetraspora* Sing.); Sobestiansky (2005: 448, as *L. fraterna*).

Laccaria proxima (Boud.) Pat.

Distribution: PR – Colombo; SC – Três Barras; RS – Nova Petrópolis.

Habitat and substrate: *Pinus*-plantation, plantation of *P. taeda*; terricolous.

Literature: Giachini et al. (2000: 1168); Meijer (2001: 113; 2006: 27); Sobestiansky (2005: 448).

Laccaria pumila Fayod

Distribution: SC – Correia Pinto, Três Barras.

Habitat and substrate: plantations of *Eucalyptus dunnii* and *P. taeda*; terricolous.
Literature: Giachini et al. (2000: 1168).

Laccaria tetraspora (Scop.) Fr.

Distribution: SC – Joinville; RS – São Leopoldo.

Habitat and substrate: *Pinus*-plantation, terricolous.

Literature: Karstedt; Stürmer (2008: 1039); Putzke (1999: 06; 2003: 280).

Laccaria tortilis (Bolton) Cooke

Distribution: SC – Correia Pinto, Três Barras.

Habitat and substrate: plantations of *Eucalyptus dunnii* and *Pinus taeda*; terricolous.

Literature: Giachini et al. (2000: 1168).

Lactarius argillaceifolius var. **argillaceifolius** Hesler & A. H. Sm.

Distribution: SC – Joinville, Rio Vermelho.

Habitat and substrate: plantations of *Pinus elliottii*, terricolous.

Literature: Giachini et al. (2000: 1168).

Lactarius braunii Rick

Distribution: RS – Porto Alegre, São Leopoldo.

Habitat and substrate: unknown habitat, terricolous.

Literature: Raitelhuber (1991: 190); Rick (1961a: 365); Singer (1953: 84).

Lactarius deliciosus (L.) Gray

Distribution: PR – Colombo; SC – Correia Pinto; RS – “highlands” as Sobestiansky (2005: 448).

Habitat and substrate: *Pinus*-plantation and *P. taeda*; terricolous.

Literature: Giachini et al. (2000: 1168); Guerrero; Homrich (1999: 40); Meijer (2006: 27); Sobestiansky (2005: 448).

Lactarius fragilis Burl. var. **fragilis** Hesler & A. H. Sm.

Distribution: SC – Correia Pinto, Joinville, Três Barras.

Habitat and substrate: *Pinus*-plantation, plantation of *P. elliottii* and *P. taeda*; terricolous.

Literature: Giachini et al. (2000: 1168); Karstedt; Stürmer (2008: 1039, as *Lactarius* cf. *fragilis* (Burl.) Hesler & A.H. Sm.).

Lactarius aff. **necator** (Bull.) Pers.

Distribution: RS – locality unknown.

Habitat and substrate: forest, terricolous.

Literature: Rick (1961a: 364, as *L. adustus* Rick); Singer (1953: 83).

Lactarius paulensis Singer

Distribution: PR – locality unknown.

Habitat and substrate: dense ombrophilous forest; terricolous, occurring on dead wood.

Literature: Meijer (2001: 113).

Comments: Apparently forming cicatrizing ectomycorrhiza with unknown host, a dicotyledonous tree (SINGER et al., 1983: 307).

Lactarius rufus (Scop.) Fr.

Distribution: PR – Mandirituba, Piraquara; SC – Correia Pinto, Três Barras; RS – Nova Petrópolis.

Habitat and substrate: *Pinus*-plantation; plantation of *P. taeda*; terricolous.

Literature: Giachini et al. (2000: 1168, as *L. rufus* (Scop.) Fr. var. *rufus* Hesler & A. H. Sm.); Meijer (2001: 114; 2006: 27); Sobestiansky (2005: 448).

Lactarius rufus (Scop.) Fr. var. **parvus** Hesler & A. H. Sm.

Distribution: SC – Correia Pinto, Três Barras.

Habitat and substrate: plantation of *Pinus taeda*, terricolous.

Literature: Giachini et al. (2000: 1168).

Lactarius russula Rick

Distribution: RS – São Leopoldo.

Habitat and substrate: forest, terricolous.

Literature: Rick (1961a: 364); Singer (1953: 83); Singer et al. (1983: 311).

Lactarius venezuelanus Dennis

Distribution: PR – Antonina, Campina Grande do Sul, Morretes, Quatro Barras.

Habitat and substrate: dense ombrophilous forest, mixed ombrophilous forest; occurring on dead wood, terricolous.

Literature: Buyck; Meijer (1999: 270); Meijer (2001: 113; 2006: 27; 2008: 372).

Comments: Its mycorrhizal association remains doubtful. This species is either non-mycorrhizal or only facultatively ectomycorrhizal. It grows on bases of living trees such as *Sloanea* (*Elaeocarpaceae*) and *Talauma* (*Magnoliaceae*) (SINGER et al., 1983: 305). The species also occurs under leguminous trees of campinarana vegetation (BUYCK; MEIJER, 1999: 271).

Lactarius sp.

Distribution: PR – locality unknown.

Habitat and substrate: dense ombrophilous forest, terricolous.

Literature: Meijer (2001: 113), as *Lactarius* sp. A (aff. *venezuelanus* Dennis).

Lactarius sp.

Distribution: PR – locality unknown.

Habitat and substrate: dense ombrophilous forest, terricolous.

Literature: Meijer (2001: 113, as *Lactarius* sp. B).

Leucogaster braunii Rick

Distribution: RS – São Leopoldo.

Habitat and substrate: *Eucalyptus*-plantation, terricolous.

Literature: Rick (1961b: 455).

Neopaxillus echinospermus (Speg.) Singer

Distribution: PR – Colombo, General Carneiro, São José dos Pinhais; RS – Couto (this locality is not in RS state, but probably in Minas Gerais state. In Minas Gerais has Couto de Magalhães de Minas city, as Maria Marchioretto from Instituto Anchieta de Pesquisas/UNISINOS (pers. com.).

Habitat and substrate: mixed ombrophilous montane forest and upper-montane and dense ombrophilous submontane forests; terricolous.

Literature: Meijer (2001: 112; 2006: 35; 2008: 44, 131, 373); Singer (1950: 221, as *Naucoria echinosperma* Speg, 231; 1953: 92, as *Tubaria crobula* Fr., 108; 1964: 114); Singer & Digilio (1951: 436); Watling; Meijer (1997: 241).

Comments: Singer et al. (1983) refers that “this species is terrigenous and there is reason to believe that it is facultatively ectomycorrhizal although no convincing ecological or experimental data are available”. Based on general observation on the genus *Neopaxillus*, Meijer (2008: 132), refers that it is not known if it is ectomycorrhizal or not.

Octaviana carnea (Wallr.) Corda.

Distribution: RS – locality unknown.

Habitat and substrate: unknown habitat, terricolous.

Lit.: Rick (1961b: 457).

Octaviana luteocarnea Bres.

Distribution: RS – locality unknown.

Habitat and substrate: unknown habitat, dead wood.

Literature: Rick (1961b: 457).

Octaviana radicans Rick

Distribution: RS – locality unknown.

Habitat and substrate: unknown habitat, dead wood.

Literature: Rick (1961b: 457).

Octaviana stillingerii Lloyd

Distribution: RS – locality unknown.

Habitat and substrate: unknown habitat, terricolous.

Lit.: Rick (1961b: 457).

Paxillus alexandri Gillet.

Distribution: RS – locality unknown.

Habitat and substrate: unknown habitat, pasture.

Literature: Rick (1961a: 405).

Paxillus involutus (Batsch) Fr.

Distribution: RS – São Salvador, São Leopoldo.

Habitat and substrate: subtropical forest, terricolous.

Literature: Guerrero; Homrich (1999: 40); Rick (1961a: 404); Singer (1964: 112, as *Paxillus* aff. *involutus*).

Phaeoclavulina cf. **camellia** (Corner) Giachini

Distribution: PR – Campina Grande do Sul, Colombo, Piraquara, São José dos Pinhais.

Habitat and substrate: dense ombrophilous forest, mixed ombrophilous forest; terricolous, occurring on dead wood.

Literature: Meijer (2001: 112; 2006: 41; 2008: 373, all as *Ramaria* cf. *camellia* Corner).

Phaeoclavulina cyanocephala (Berk. & M.A. Curtis) Giachini

Distribution: PR – Colombo, Piraquara, Quatro Barras, São José dos Pinhais.

Habitat and substrate: dense ombrophilous forest, mixed ombrophilous forest; terricolous.

Literature: Meijer (2001: 112, as *Ramaria grandis* (Peck) Corner f. *cyanocephala* (Berk. & Curtis) R.H. Petersen; 2006: 41; 2008: 99, 373, both as *Ramaria cyanocephala* (Berk. & M.A. Curtis) Corner).

Phaeoclavulina aff. **eumorpha** (P. Karst.) Giachini

Distribution: PR – Fênix, Morretes, Paranaguá, Rio Branco do Sul, São José dos Pinhais.

Habitat and substrate: dense ombrophilous forest, mixed ombrophilous forest, seasonal semi-deciduous submontane/montane forest; unknown substrate.

Literature: Meijer (2006: 41, as *Ramaria* aff. *patagonica* (Speg.) Corner).

Phaeoclavulina pancaribbea (R.H. Petersen) Giachini

Distribution: PR – Piraquara.

Habitat and substrate: dense ombrophilous forest, mixed ombrophilous forest; terricolous.

Literature: Meijer (2001: 112; 2006: 41, as *Ramaria* cf. *pancaribbea* R.H. Petersen f. *caerulea* R.H. Petersen).

Comments: The species is considered putative ectomycorrhizal, yet likely to be ectomycorrhizal as other species from the genus (AGERER; RAMBOLD, 2010).

Phaeoclavulina subclaviformis (Berk.) Giachini

Distribution: PR – Campina Grande do Sul, Quatro Barras, Piraquara, São José dos Pinhais.

Habitat and substrate: dense ombrophilous forest, mixed ombrophilous forest, ‘restinga’; terricolous.

Literature: Meijer (2001: 112; 2006: 23, both as *Gomphus subclavaeformis* (B. Hook.) Corner; Meijer 2008: 97, 372, as *Gomphus* cf. *subclaviformis* (Berk.) Corner).

Phaeoclavulina sp.

Distribution: PR – São José dos Pinhais.

Habitat and substrate: mixed ombrophilous forest, unknown substrate.

Literature: Meijer (2006: 41, as *Ramaria* sp. A (subgen. *Echinoramaria* Corner ser. *Grandisporae* Corner).

Phaeoclavulina sp.

Distribution: PR – locality unknown.

Habitat and substrate: dense ombrophilous forest, terricolous.

Literature: Meijer (2001: 112, as *Ramaria* sp. A. subg. *Echinoramaria*; 2006: 41, as *Ramaria* sp. A (subgen. *Echinoramaria* Corner ser. *Grandisporae* Corner).

Phlebopus beniensis (Singer & Digilio) Heinem. & Rammeloo

Distribution: PR – Paranaguá, Pontal do Paraná, Vera Cruz do Oeste.

Habitat and substrate: seasonal semi-deciduous submontane/montane forest, ‘restinga’; terricolous.

Literature: Meijer (2001: 112; 2006: 36); Watling & Meijer (1997: 235).

Comments: growing close to *Laguncularia racemosa* Gaertn and *Hibiscus tiliaceus* L. (WATLING; MEIJER, 1997: 235). Its mycorrhizal association remains doubtful (SINGER et al. 1983: 46).

Phlebopus braunii (Bres.) Heinem.

Distribution: RS – São Leopoldo, Vera Cruz.

Habitat and substrate: subtropical forest, terricolous.

Literature: Putzke et al. (1994: 84).

Phlebopus tropicus (Rick) Heinem. & Rammeloo

Distribution: RS – São Leopoldo, Vera Cruz; SC – Itapiranga.

Habitat and substrate: subtropical forest, terricolous.

Literature: Putzke et al. (1994: 86); Singer (1950: 233; 1953: 101, as *Boletus tropicus* Rick); Singer; Digilio (1957: 253, as *Phaeogyroporus tropicus* (Rick) apud Rehm et Rick) Sing.).

Comments: Putative ectomycorrhizal, forming mycorrhiza with *Allophylus* spp. (PUTZKE et al., 1994: 86). There is no evidence that this species forms typical ectomycorrhizae (SINGER et al., 1983: 42).

Phyllobolites miniatus (Rick) Singer

Dist.: RS – locality unknown.

Habitat and substrate: subtropical forest, terricolous.

Literature: Rick (1961a: 405 as *Paxillus miniatus* Rick); (Singer 1953: 93; 1964: 131); Singer et al. (1983: 30).

Comments: Singer et al. (1983: 32) refer under *Leguminosae* trees, as a putative ectomycorrhizal species.

Phylloporia spathulata (Hook.) Ryvarden

Dist.: PR – Campina Grande do Sul, Quatro Barras, São Mateus do Sul.

Habitat and substrate: dense ombrophilous forest, mixed ombrophilous forest, mixed ombrophilous alluvial forest, mixed ombrophilous montane forest; terricolous and decayed wood, sometimes on the trunk base of living *Cyatheaceae* tree fern.

Literature: Meijer (2006: 37; 2008: 373).

Comments: This species is putative ectomycorrhizal (MEIJER, 2008: 373).

Pisolithus albus (Cooke & Masee) Priest

Distribution: SC – Correia Pinto.

Habitat and substrate: plantations of *Eucalyptus dunnii*, terricolous.

Literature: Giachini et al. (2000: 1168).

Pisolithus arhizus (Scop.) Rauschert

Distribution: RS – Capão do Leão, Porto Alegre, Rio Grande, Santa Maria, Viamão.

Habitat and substrate: *Eucalyptus*-plantation, plantation of *Pinus elliottii*, near *Tabebuia heptaphylla*; terricolous.

Literature: Guerrero; Homrich (1999: 48, as *Pisolithus tinctorius*), Cortez (2009: 03).

Pisolithus microcarpus (Cooke & Masee) G. Cunn.

Distribution: PR – Curitiba, São José dos Pinhais; SC – Córrego Grande, Rio Vermelho, Três Barras.

Habitat and substrate: *Eucalyptus*-plantation, plantations of *E. citriodora*, *E. dunnii*, *E. robusta*; terricolous.

Literature: Giachini et al. (2000: 1169); Meijer (2001: 114, as *Pisolithus* sp.; 2006: 37, as *Pisolithus* cf. *microcarpus* (Cooke and Masee) G. Cunn.).

Pisolithus pisoformis (Lloyd) Rick

Distribution: RS – locality unknown.

Habitat and substrate: unknown habitat, occurring on dead wood.

Literature: Rick (1961b: 459).

Pisolithus sp.

Distribution: RS – Nova Pádua.

Habitat and substrate: *Eucalyptus*-plantation, terricolous.

Literature: Sobestiansky (2005: 452).

Ramaria anziana R. H. Petersen

Distribution: SC – Correia Pinto, Rio Vermelho.

Habitat and substrate: *Eucalyptus*-plantation, terricolous.

Literature: Giachini et al. (2000: 1168).

Ramaria aureofulva Corner

Distribution: PR – São José dos Pinhais.

Habitat and substrate: mixed ombrophilous forest, unknown substrate.

Literature: Meijer (2006: 41; 2008: 44, 373, as *Ramaria* cf. *aureofulva* Corner).

Ramaria geesterani de Meijer

Distribution: PR – São José dos Pinhais.

Habitat and substrate: mixed ombrophilous montane forest; terricolous.

Literature: Meijer (2008: 44, 101, 373).

Comments: Meijer (2008: 103) refer that in all ten native species of *Ramaria* occurring in Paraná States and the ectomycorrhizal status is unknown.

Ramaria junquilleovortex R. H. Petersen

Distribution: SC – Rio Vermelho.

Habitat and substrate: *Eucalyptus*-plantation, terricolous.

Literature: Giachini et al. (2000: 1168).

Ramaria moelleriana var **moelleriana** (Bres. & Roum.) Corner

Distribution: PR – São José dos Pinhais.

Habitat and substrate: mixed ombrophilous montane forest; decayed dicotyledonous branch.

Literature: Meijer (2008: 44, 373).

Ramaria cf. **reticulata** (Berk. & Cooke) Corner var. **macrospora** Corner

Distribution: PR – Cornélio Procópio.

Habitat and substrate: seasonal semi-deciduous submontane/montane forest, unknown substrate.

Literature: Meijer (2006: 41).

Ramaria toxica Toledo & R.H. Petersen

Distribution: PR – Curitiba; RS – Porto Alegre, “highlands and interior of Rio Grande do Sul” as Sobestiansky (2005: 453).

Habitat and substrate: *Eucalyptus*-plantation, terricolous.

Literature: Meijer (2001: 113; 2006: 41); Guerrero; Homrich (1999: 51); Sobestiansky (2005: 453).

Rhizopogon fuscrobens A. H. Sm.

Distribution: SC – Correia Pinto, Rio Vermelho, Três Barras.

Habitat and substrate: plantations of *P. elliotii* and *P. taeda*, terricolous.

Literature: Giachini et al. (2000: 1168).

Rhizopogon nigrescens Coker & Couch

Distribution: SC – Rio Vermelho, Três Barras.

Habitat and substrate: plantations of *P. elliotii* and *P. taeda*, terricolous.

Literature: Giachini et al. (2000: 1168).

Rhizopogon roseolus (Corda) Th. Fr.

Distribution: PR – Colombo, Curitiba; SC – Correia Pinto, Três Barras; RS – Itaara, Santa Maria.

Habitat and substrate: *Pinus*-plantation, plantation of *P. taeda*; terricolous.

Literature: Cortez (2009: 02); Giachini et al. (2000: 1168, as *Rhizopogon rubescens* (Tul. & C. Tul.) Tul. & C. Tul. and *Rhizopogon vulgaris* (Vittad.) M. Lange); Meijer (2001: 113, as *R. luteorubescens* A.H. Sm.; 2006: 41, as *Rhizopogon roseolus* (Corda) Th.Fr. sens. Martín (1996) or *R. luetorubescens* A.H.Sm.).

Rhizopogon zelleri A.H. Sm.

Distribution: SC – Três Barras.

Habitat and substrate: plantation of *P. taeda*, terricolous.

Literature: Giachini et al. (2000: 1168).

Rhizopogon sp.

Distribution: RS – Nova Petrópolis.

Habitat and substrate: *Pinus*-plantation, terricolous.

Literature: Sobestiansky (2005: 453).

Russula consobrina (Fr.) Fr.

Distribution: PR – São José dos Pinhais; RS – Nova Petrópolis.

Habitat and substrate: *Pinus*-plantation, terricolous.

Literature: Meijer (2001: 114; 2006: 42); Sobestiansky (2005: 453).

Russula cf. **dennisii** Singer ex Buyck

Distribution: PR – Antonina.

Habitat and substrate: dense ombrophilous forest, substrate unknown.

Literature: Meijer (2006: 42).

Russula puiggarii (Speg.) Singer

Distribution: PR – Campina Grande do Sul, Quatro Barras, Morretes, Piraquara; RS – São Leopoldo.

Habitat and substrate: dense ombrophilous forest, mixed ombrophilous forest; terricolous, sandy soil, occurring on dead or rotten wood.

Literature: Meijer (2001: 113; 2006: 42; 2008: 373); Rick (1961a: 363, as *R. pectinata* (Bull.) Fr.); Singer; Digilio (1951: 442); Singer (1953: 83, as *R. pectinata* (Bull.) Fr.); Singer et al. (1983: 214).

Comments: Occuring in all types of rain forests, mainly in the tropical lowlands, probably non-mycorrhizal or only facultatively mycorrhizal (SINGER et al., 1983: 215). Recently Haug et al. (2005) observed *R. puiggarii* forming a mantle and a Hartig's net in roots of *Neea* sp. (*Nyctaginaceae*).

Russula riograndensis Sing.

Distribution: RS – São Leopoldo.

Habitat and substrate: forest, terricolous.

Literature: Rick (1961a: 363, as *R. subfragilis* Rick); Singer (1953: 81, as *R. subfragilis* Rick); Singer et al. (1983: 236, as *R. subfragilis* Rick).

Russula theissenii Rick

Distribution: PR – Morretes; RS – São Leopoldo.

Habitat and substrate: dense ombrophilous forest, terricolous.

Literature: Meijer (2001: 113; 2006: 42, 2008: 373, both as *Russula* aff. *theissenii* Rick); Rick (1961a: 363); Singer (1953: 81); Singer et al. (1983: 209).

Comments: The position and ecological significance of this species is not fully clear (SINGER et al., 1983: 211).

Russula velenovskyi Melzer & Zvára

Distribution: PR – locality unknown.

Habitat and substrate: planted *Castanea sativa*, terricolous.

Literature: Meijer (2001: 114; 2006: 42).

Russula sp.

Distribution: PR – locality unknown.

Habitat and substrate: dense ombrophilous forest, terricolous.

Literature: Meijer (2001: 113, as *Russula* sp. A).

Russula sp.

Distribution: PR – locality unknown.

Habitat and substrate: dense ombrophilous forest, terricolous.

Literature: Meijer (2001: 113, as *Russula* sp. B).

Russula sp.

Distribution: PR – locality unknown.

Habitat and substrate: gallery forest in area of savanna, terricolous.

Literature: Meijer (2001: 113, as *Russula* sp. C).

Russula sp.

Distribution: PR – locality unknown.

Habitat and substrate: 'restinga', terricolous.

Literature: Meijer (2001: 113, as *Russula* sp. D).

Russula sp.

Distribution: RS – Canela.

Habitat and substrate: *Pinus*-plantation, terricolous.

Literature: Sobestiansky (2005: 453).

Sarcodon atroviridis (Morgan) Banker

Distribution: PR – Colombo, General Carneiro, Quatro Barras, Morretes, Piraquara, São Sojé dos Pinhais.

Habitat and substrate: dense ombrophilous forest, mixed ombrophilous montane forest; terricolous.

Literature: Meijer; Baird (1992: 639); Meijer (2001: 113; 2006: 42; 2008: 373, both as *Sarcodon bambusinus* (R.E.D. Baker & W.T. Dale) Maas Geest.

Comments: Ectomycorrhizal with leguminous trees (SINGER et al., 1983: 20).

Scleroderma albidum Pat. & Trab.

Distribution: SC – Córrego Grande, Correia Pinto, Rio Vermelho, Três Barras; RS – Capitão, Minas do Leão, Pareci Novo, Rio Grande, Santa Cruz do Sul, Santa Maria, São Leopoldo, Viamão.

Habitat and substrate: *Eucalyptus*-plantation, plantations of *Pinus elliottii* and *P. taeda*; terricolous.

Literature: Cortez et al. (2008b: 293); Cortez (2009: 04); Giachini et al. (2000: 1169); Guzmán (1970: 301).

Scleroderma areolatum Ehrenb.

Distribution: SC – Córrego Grande, Correia Pinto, Rio Vermelho, Três Barras.

Habitat and substrate: *Eucalyptus*-plantation, terricolous.

Literature: Giachini et al. (2000: 1169).

Scleroderma bougheri Trappe, Castellano & Giachini

Distribution: SC – Correia Pinto, Rio Vermelho, Três Barras.

Habitat and substrate: *Eucalyptus*-plantation, terricolous.

Literature: Giachini et al. (2000: 1169).

Scleroderma bovista Fr.

Distribution: SC – Córrego Grande, Correia Pinto, Joinville, Rio Vermelho, Três Barras; RS – Porto Alegre, Santa Maria.

Habitat and substrate: *Eucalyptus*-plantation, plantations of *Pinus elliottii* and *P. taeda*, terricolous.

Literature: Cortez (2009: 05); Giachini et al. (2000: 1169); Guzmán (1970: 344, the autor did not mention the name of the state but the colector is Rick).

Scleroderma cepa Pers.

Distribution: SC – Correia Pinto.

Habitat and substrate: plantations of *Eucalyptus dunnii*, terricolous.

Literature: Giachini et al. (2000: 1169).

Scleroderma citrinum Pers.

Distribution: PR – Castro; SC – Córrego Grande, Correia Pinto, Joinville, Rio Vermelho, Três Barras; RS – Nova Petrópolis, Santa Maria, São Francisco de Paula, São Leopoldo.

Habitat and substrate: *Pinus*-plantation, plantations of *P. elliottii* and *P. taeda*; occurring in living wood, terricolous.

Literature: Giachini et al. (2000: 1169); Meijer (2001: 114; 2006: 43); Rick (1961b: 458, as *Scleroderma vulgare* Hornem.; Sobestiansky (2005: 453).

Scleroderma dictyosporum Pat.

Distribution: RS – Santa Maria.

Habitat and substrate: near *Acacia caven*, terricolous.

Literature: Cortez (2009: 06).

Comments: Cortez (2009) reported this species distributed across dry regions of Africa, Asia and America, as well the subtropical zone. The Brazilian specimens were found growing near the base of *Acacia caven* (Molina) Molina, a native species from southern South America. Authors also reported that in Africa *S. dictyosporum* was found as an ectomycorrhizal partner of other acacia species, such as *A. holosericea* and *A. mangium* (see also FOUNOUNE et al., 2002; DUPONNOIS et al., 2006; SANON et al., 2009).

Scleroderma floridanum Guzmán

Distribution: SC – Córrego Grande, Correia Pinto, Rio Vermelho, Três Barras.

Habitat and substrate: *Eucalyptus*-plantation, plantations of *Pinus elliottii* and *P. taeda*; terricolous.

Literature: Giachini et al. (2000: 1169).

Scleroderma laeve Lloyd

Distribution: RS – Porto Alegre.

Habitat and substrate: *Eucalyptus*-plantation, terricolous.

Literature: Cortez (2009: 07).

Scleroderma uruguayense (Guzmán) Guzmán

Distribution: SC – Córrego Grande, Correia Pinto, Rio Vermelho.

Habitat and substrate: plantations of *Pinus elliottii* and *P. taeda*; terricolous.

Literature: Giachini et al. (2000: 1169).

Scleroderma verrucosum (Bull.) Pers.

Distribution: PR – Colombo, Curitiba, São José dos Pinhais; SC – Córrego Grande; RS – Nova Petrópolis, Santa Maria.

Habitat and substrate: pasture, plantations of *Pinus elliottii*, *Eucalyptus*-plantation; terricolous.

Literature: Cortez (2009: 08); Giachini et al. (2000: 1169); Meijer (2001: 114; 2006: 43, as *Scleroderma* cf. *verrucosum* (Bull.: Pers.) Pers.); Rick (1961b: 458); Sobestiansky (2005: 454, as *Scleroderma* cf. *verrucosum* (Bull.: Pers.) Pers.).

Sclerogaster luteocarneus (Bres.) Zeller & C.W. Dodge

Distribution: PR – Fênix.

Habitat and substrate: seasonal semi-deciduous submontane/montane forest, terricolous.

Literature: Meijer (2001: 113; 2006: 43).

Setchelliogaster tenuipes (Setch.) Pouzar

Distribution: SC – Correia Pinto; RS – Guaíba, Viamão.

Habitat and substrate: *Eucalyptus*-plantation, plantations of *E. dunnii*; terricolous.

Literature: Giachini et al. (2000: 1168); Cortez et al. (2008a: 514).

Suillus cothurnatus Singer

Distribution: SC – Correia Pinto, Rio Vermelho, Três Barras; RS – Nova Petrópolis.

Habitat and substrate: *Pinus*-plantation, plantations of *P. elliottii* and *P. taeda*; terricolous.

Literature: Giachini et al. (2000: 1168); Sobestiansky (2005: 454).

Comments: Occuring in the neighborhood of either *Pinus palustris* or *P. taeda*, though occasionally as far as 11m from the nearest pine tree (SINGER et al., 1983: 52).

Suillus cothurnatus Singer var. **cothurnatus**

Distribution: PR – Colombo.

Habitat and substrate: plantations of *Pinus elliottii* and *P. patula*; terricolous.

Literature: Meijer (2001: 113; 2006: 44); Watling; Meijer (1997: 236).

Suillus granulatus (L.) Kuntze

Distribution: PR – Colombo; SC – Córrego Grande, Correia Pinto; RS – Santa Cruz do Sul, Venâncio Aires.

Habitat and substrate: *Pinus*-plantation, plantations of *P. elliottii*, *P. patula*, *P. taeda*; terricolous.

Literature: Giachini et al. (2000: 1168); Meijer (2001: 113; 2006: 44); Putzke et al. (1994: 90); Watling; Meijer (1997: 238).

Suillus luteus (L.) Roussel

Distribution: PR – Colombo; RS – Canela, Nova Petrópolis, Pelotas.

Habitat and substrate: *Pinus*-plantation, plantations of *P. elliottii*; terricolous.

Literature: Meijer (2001: 113; 2006: 44); Putzke et al. (1994: 88); Sobestiansky (2005: 454); Watling; Meijer (1997: 238).

Comments: Singer (1945 and 1949); Putzke et al. (1994: 89) refers this species as occurring only in *Pinus nigra*, *P. pinea*, *P. silvestris* and *P. resinosa*.

Suillus subaureus (Peck) Snell

Distribution: RS – Vera Cruz.

Habitat and substrate: *Pinus*-plantation, terricolous.

Literature: Putzke et al. (1994: 91).

Thelephora americana Lloyd

Distribution: SC – Rio Vermelho, Três Barras.

Habitat and substrate: *Eucalyptus*-plantation, plantations of *Pinus elliottii* and *P. taeda*; terricolous.

Literature: Giachini et al. (2000: 1169).

Thelephora griseozonata Cooke

Distribution: SC – Rio Vermelho.

Habitat and substrate: *Eucalyptus*-plantation, terricolous.

Literature: Giachini et al. (2000: 1169).

Thelephora palmata (Scop.) Fr.

Distribution: PR – Pontal do Paraná.

Habitat and substrate: 'restinga', occurring on dead wood.

Literature: Meijer (2001: 113; 2006: 44).

Comments: This species is ectomycorrhizal as Chen et al. (2001).

Thelephora terrestris Ehrh.

Distribution: PR – General Carneiro; SC – Rio Vermelho, Três Barras.

Habitat and substrate: *Eucalyptus*-plantation, *Pinus*-plantation, plantations of *P. taeda*; terricolous, occurring on dead wood.

Literature: Giachini et al. (2000: 1169); Guerrero & Homrich (1999: 46); Meijer (2001: 114; 2006: 44).

Thelephora sp.

Distribution: PR – locality unknown.

Habitat and substrate: mixed ombrophilous forest, occurring on dead wood.

Literature: Meijer (2001: 113, as *Thelephora* sp. A).

Tricholoma atosquamosum Sacc.

Distribution: PR – Colombo.

Habitat and substrate: *Eucalyptus*-plantation, unknown substrate.

Literature: Meijer (2006: 45).

Tricholoma cf. **eucalypticum** A. Pearson

Distribution: PR – Curitiba.

Habitat and substrate: *Eucalyptus*-plantation, terricolous.

Literature: Meijer (2001: 113; 2006: 45).

Tricholoma sulphurellum Rick

Distribution: RS – Esmeralda.

Habitat and substrate: *Araucaria* forest, terricolous.

Literature: Putzke (2003: 579); Rick (1961a: 304); Singer (1953: 64); Singer et al. (1983: 173); Sulzbacher et al. (2007: 146).

Comments: Singer et al. (1983: 174) pointed out the possibility of this species being ectomycorrhizal since it is a member of the section *Sericella* (Fr.) Quél. (= *Sericeocutis* Singer), a section known to contain ectomycorrhizal species.

Tricholoma vaccinum (Schaeff.) P. Kumm.

Distribution: RS – locality unknown.

Habitat and substrate: forest, unknown substrate.

Literature: Rick (1961: 304).

Tricholoma sp.

Distribution: PR – locality unknown.

Habitat and substrate: seasonal semi-deciduous alluvial forest, terricolous.

Literature: Meijer (2001: 112, as *Tricholoma* sp. A aff. *imbricatum* (Fr.: Fr.) Kummer).

Tricholoma sp.

Distribution: PR – locality unknown.

Habitat and substrate: mixed ombrophilous forest, *Pinus*-plantation, terricolous.

Literature: Meijer (2001: 112 and 113 as *Tricholoma* sp. B subg. *Tricholoma* sect. *Genuina*).

Tricholoma sp.

Distribution: PR – locality unknown.

Habitat and substrate: *Eucalyptus*-plantation, terricolous.

Literature: Meijer (2001: 113, as *Tricholoma* sp. C. subg. *Tricholoma* sect. *Tricholoma*).

Tylopilus sp.

Distribution: PR – locality unknown.

Habitat and substrate: dense ombrophilous forest, terricolous or growing at the base of a trunk of a living tree-fern (Watling; Meijer, 1997: 240).

Literature: Meijer (2001: 112; 2006: 45, both as cf. *Tylopilus* sp.); Watling; Meijer (1997: 240).

Comments: Putative ectomycorrhizal, based on the fact that several species from the genus are known to be ectomycorrhizal (HALLING et al., 2008).

Xerocomus basius de Meijer & Watling

Distribution: PR – Campina Grande do Sul, Colombo, Curitiba, São José dos Pinhais.

Habitat and substrate: dense ombrophilous forest, mixed ombrophilous montane forest; terricolous.

Literature: Meijer (2008: 44, 125, 373).

Comments: It is unknown if this is an ectomycorrhizal species (MEIJER, 2008: 127).

Xerocomus brasiliensis (Rick) Singer

Distribution: RS – Nova Petrópolis, São Leopoldo.

Habitat and substrate: open places among *Gramineae*, subtropical and tropical forest, *Eucalyptus*-plantation; terricolous, rotten wood.

Literature: Putzke et al. (1994: 92); Singer; Digilio (1957: 260); Singer et al. (1983: 65); Singer (1953: 100, as *Boletus brasiliensis* Rick, 101, as *Phylloporus flavipes* Rick); Sobestiansky (2005: 443, as *Boletus brasiliensis* Rick).

Comments: Few ecological data available, is facultatively ectomycorrhizal, forming mycorrhiza with *Eucalyptus* (SINGER et al., 1983: 66). Putative ectomycorrhiza according to Sobestiansky (2005: 443).

Xerocomus aff. **coccolobae** Pegler

Distribution: PR – Curitiba, Campina Grande do Sul, Mandirituba, São José dos Pinhais.

Habitat and substrate: dense ombrophilous forest, mixed ombrophilous forest; terricolous.

Literature: Meijer (2001: 112; 2006: 45, as *Xerocomus* sp. A); Watling; Meijer (1997: 239, as *Xerocomus* cf. *coccolobae* Pegler).

Comments: A mycorrhizal connection has not been established (WATLING; MEIJER, 1997: 239). However, it maybe a putative ectomycorrhizal species as observed for other species in the genus (AGERER; RAMBOLD, 2010). *Xerocomus coccolobae* is associated with *Coccoloba* (*Polygonaceae*) but the ectomycorrhizal status is unknown (MEIJER, 2008: 127).

3.6 Conclusion

At total, 133 ectomycorrhizal or putatively ectomycorrhizal species were recorded from southern Brazil (states of Rio Grande do Sul, Santa Catarina and Parana). In this region, the climate, soil and vegetation are very different from the rest of the country. These species are distributed among 47 genera and represent mainly ectomycorrhizal genera known from the northern hemisphere. Several listed species can only be found in South America (including the southern Brazil) and for the majority of them no ectomycorrhizal status was established following the common procedures or ECM description and/or molecular confirmation (sensu Agerer 1991). For the majority of the listed species there is still a need for further investigation in order to provide information on their ECM status and also to broaden their ecological and seasonal distribution. Additionally, a number of species also need more detailed taxonomic revision, including the application of molecular markers as a tool for clear separation and taxonomical confirmation of the species names.

The aim of our future work is to fulfill these missing gaps in the knowledge of the diversity, mycorrhizal status and general ecology of the species listed here.

3.7 Acknowledgements

We are grateful to National Council for Scientific and Technological Development (CNPq - Brazil) and the Coordination for the Improvement of Higher Education Personnel (CAPES - Brazil) for their financial support. Special thanks go to Adriano Afonso Spielmann, Felipe Wartchow and Vagner Gularte Cortez for their valuable suggestions to the manuscript, and to Cecília Dorfey for helping with the English translation. We also thank Dra. Maria Salete Marchioretto for help on the Latin diagnosis.

3.8 References

AGERER, R. Characterization of ectomycorrhiza. **Methods in Microbiology**, n. 23, p. 25 – 73, 1991.

- AGERER, R.; RAMBOLD, G. 2004 – 2010 [first posted on 2004-06-01; most recent update: 2009-01-26]. DEEMY – An Information System for Characterization and Determination of Ectomycorrhizae. www.deemy.de – München, Germany.
- BAS, C.; MEIJER, A.A.R. de. *Amanita grallipes*, a new species in *Amanita* subsection *Vittadiniae* from southern Brazil. **Persoonia**, n. 15, p. 345 – 350, 1993.
- BASEIA, I.G.; MILANEZ A.I. *Rhizopogon* (Gasteromycetes): hypogeous fungi in exotic forests from the State of São Paulo, Brazil. **Acta Bot. Brasil**, n. 16, p. 55 – 60, 2002.
- BASEIA, I.G.; MILANEZ, A.I. First record of *Scleroderma polyrhizum* Pers. (Gasteromycetes) from Brazil. **Acta Bot. Brasil**, n. 14, p. 181 – 184, 2000.
- BASEIA, I.G.; CORTEZ, V.G.; CALONGE, F.D. Rick species revision: *Mitremyces zanchianus* versus *Calostoma zanchianum*. **Mycotaxon**, n. 95, p. 113 – 116, 2006.
- BASEIA, I.G.; *et al.* O gênero *Calostoma* (*Boletales*, *Agaricomycetidae*) em áreas de cerrado e semi-árido no Brasil. **Acta Botanica Brasilia**, n. 21, p. 277 – 280, 2007.
- BINDER, M.; HIBBETT, D.S. Higher level phylogenetic relationships of *Homobasidiomycetes* (mushroom-forming fungi) inferred from four rDNA regions. **Mol Phylogenet Evol**, n. 22, p. 76 – 90, 2002.
- BINDER, M.; HIBBETT, D.S. Molecular systematics and biological diversification of *Boletales*. **Mycologia**, n. 98, p. 971 – 981, 2006.
- BUYCK, B.; de MEIJER, A. *Russula obtusopunctata*, a new synonym for *Lactarius venezuelanus*. **Mycotaxon**, n. 73, p. 267 – 273, 1999.
- CHEN, D.M.; *et al.* Identification of genes for lignin peroxidases and manganese peroxidases in ectomycorrhizal fungi. **New Phytologist**, n. 152, p. 151 – 158, 2001.
- CORTEZ, V.G.; COELHO, G. Additions to the mycobiota (Agaricales, Basidiomycetes) of Rio Grande do Sul, Brazil. **Iheringia**, n. 60, p. 69 – 75, 2005.
- CORTEZ, V.G.; *et al.* Two sequestrate cortinarioid fungi from Rio Grande do Sul State, Brazil. **Hoehnea**, n. 35, p. 513 – 518, 2008a.
- CORTEZ, V.G.; BASEIA I.G.; SILVEIRA, R.M.B. Gasteromicetos (*Basidiomycota*) no Parque Estadual de Itapuã, Viamão, Rio Grande do Sul, Brasil. **Revista Brasileira de Biociências**, n. 6, p. 291 – 299, 2008b.
- CORTEZ, V.G. **Estudo sobre Fungos Gasteróides (*Basidiomycota*) no Rio Grande do Sul, Brasil.** Tese (Doutorado em Botânica) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2009.

- DUPONNOIS, R.; *et al.* Inoculation of *Acacia holosericea* with ectomycorrhizal fungi in a semiarid site in Senegal: growth response and influences on the mycorrhizal soil infectivity after 2 years plantation. **Forest Ecology and Management**, n. 207, p. 351 – 362, 2005.
- FIASCHI, P.; PIRANI, J.R. Review of plant biogeographic studies in Brazil. *Journal of Systematics and Evolution*, n. 47, p. 477 – 496, 2009.
- FIDALGO, O. Rick, o Pai da Micologia Brasileira. **Rickia**, n. 1, p. 3 – 11, 1962.
- FOUNOUNE, H.; DUPONNOIS, R.; BÂ, A.M. Ectomycorrhization of *Acacia mangium* Willd. and *Acacia holosericea* A. Cunn. ex G. Don in Senegal. Impact on plant growth, populations of indigenous symbiotic microorganisms and plant parasitic nematodes. **Journal of Arid Environment**, n. 50, p. 325 – 332, 2002.
- GIACHINI, A.J.; *et al.* Ectomycorrhizal fungi in *Eucalyptus* and *Pinus* plantations in southern Brazil. **Mycologia**, n. 92, p. 1166 – 1177, 2000.
- GIACHINI, A.J.; SOUZA, L.A.B.; OLIVEIRA, V.L. Species richness and seasonal abundance of ectomycorrhizal fungi in plantations of *Eucalyptus dunnii* and *Pinus taeda* in southern Brazil. **Mycorrhiza**, n. 14, p. 375 – 381, 2004.
- GRUHN, C.M.; GRUHN, A.V.; MILLER, Jr.O.K. *Boletinelus merulioides* alters root morphology of *Pinus densiflora* without nycorrhizal formation. **Mycologia**, n. 84, p.: 528 – 533, 1992.
- GUERRERO, R.T.; HOMRICH, M.H. **Fungos Macroscópicos Comuns no Rio Grande do Sul – Guia para Identificação**. 2ª ed. Porto Alegre: Ed. UFRGS, 1999.
- GURGEL, F.E.; SILVA, B.D.B.; BASEIA, I.G. New records of *Scleroderma* from Northeastern Brazil. **Mycotaxon**, n. 105, p. 399 – 405, 2008.
- GUZMÁN, G. Monografía del género *Scleroderma*. **Darwiniana**, n. 16, p. 233 - 407, 1970.
- HALLING, R.E; MUELLER, G.M. **Common Mushrooms of the Talamanca Mountains, Costa Rica**. *Memoirs of The New York Botanical Garden*, n. 90, 2005.
- HALLING, R.E.; OSMUNDSON, T.W.; NEVES, M.A. Pacific boletes: Implication for biogeographic relationships. **Mycological Research**, n. 112, p. 437 – 447, 2008.
- HAUG I.; *et al.* *Russulaceae* and *Telephoraceae* form ectomycorrhizae with members of the *Nyctanginaceae* (*Caryophyllales*) in the tropical mountain rain forest of southern Ecuador. **New Phytologist**, n. 165, p. 923 – 936, 2005.
- HIBBETT, D.S.; *et al.* Evolution of gilled mushrooms and puffballs inferred from ribosomal DNA sequences. **Proc Natl Acad Sci**, n. 94, p.12002 – 12006, 1997.
- HIBBETT, D.S. A phylogenetic overview of the Agaricomycotina. **Mycologia**, n.98, p. 917 – 925, 2006.

- HOSAKA, K.; *et al.* Molecular phylogenetics of the gomphoid-phalloid fungi with an establishment of the new subclass *Phallomycetidae* and two new orders. **Mycologia**, n. 98, p. 949 – 959, 2006.
- KARSTEDT, F.; STÜRMER, S.L. Agaricales em áreas de Floresta Ombrófila Densa e plantações de Pinus no Estado de Santa Catarina, Brasil. **Acta bot. Bras**, n. 22, p. 1036 – 1043, 2008.
- KIRK, P.M; *et al.* **Ainsworth and Bisby's Dictionary of the Fungi**. 9th ed. Cambridge, United Kingdom: CAB International University Press., 2001.
- MATHENY, P.B.; *et al.* Major clades of *Agaricales*: a multilocus phylogenetic overview. **Mycologia**, n. 98, p. 984 – 997, 2006.
- MAUHS, J. Tipos da coleção Fungi Rickiani. **Pesquisas**, n. 50, p. 79 – 96, 2000.
- MEIJER, A.A.R. de.; BAIRD, R.E. Macromycetes from the state of Paraná, Brazil. 3. Stipitate hydnums. **Arq. Biol. Tecnol.**, n. 35, p. 635 – 640, 1992.
- MEIJER, A.A.R. de. Mycological work in the Brazilian state of Paraná. **Nova Hedwigia**, n. 72, p. 105 – 159, 2001.
- MEIJER, A.A.R. de. Preliminary list of the macromycetes from the Brazilian state of Paraná. **Bol. Mus. Bot. Munic. Curitiba**, n. 68 p. 1 – 55, 2006.
- MEIJER, A.A.R. de. **Notable Macrofungi from Brazil's Paraná Pine Forest**. Colombo, PR: Embrapa Floresta, 2008.
- MENOLLI, Jr.N.; CAPELARI, M.; BASEIA, I.G. *Amanita viscidolutea*, a new species from Brazil with a key to Central and South American species of *Amanita* section *Amanita*. **Mycologia**, n. 101, p. 395 – 400, 2009.
- MONCALVO, J.-M.; *et al.* One hundred and seventeen clades of euagarics. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, n. 23, p. 357 – 400, 2002.
- NEVES, M.A.; CAPELARI, M. A preliminary checklist of *Boletales* from Brazil and notes on *Boletales* specimens at the Instituto de Botânica (SP) herbarium, São Paulo, SP, Brazil. **Sitientibus série ciências biológicas**, n. 7, p. 163 – 169, 2007.
- NOUHRA, E.; *et al.* Occurrence of ectomycorrhizal, hypogeous fungi in plantations of exotic tree species in central Argentina. **Mycologia**, n. 100, p. 752 – 759, 2008.
- PUTZKE, J.; MARIA, L.; PEREIRA, A.B. Os fungos da família *Boletaceae* conhecidos do Rio Grande do Sul (*Fungi, Basidiomycota*). **Caderno de Pesquisa, Série Botânica**, n. 6, p. 75 – 100, 1994.
- PUTZKE, J. Lista dos fungos Agaricales (*Hymenomyces, Basidiomycotina*) referidos para o Brasil. **Caderno de Pesquisa, Série Botânica**, n. 6, p. 1 – 189, 1994.

PUTZKE, J. O gênero *Laccaria* no Rio Grande do Sul. **Caderno de Pesquisa Série Botânica**, n. 11, p. 3 – 13, 1999.

PUTZKE, J. **Espécies de Tricholomataceae (Basidiomycota, Agaricales) no Rio Grande do Sul**. Tese (Doutorado em Botânica) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS. 2003.

RAITHELHUBER, J. Flora Mycologica Argentina: Hongos III. Stuttgart, add. ser. *Metrodiana*, p. 1 – 500, 1991.

RAJCHENBERG, M.; MEIJER., A.A.R. de. New and noteworthy polypores from Paraná and São Paulo States, Brazil. **Mycotaxon**, n. 38, 173 – 185, 1990.

RICK, J. Basidiomycetes eubasidii in Rio Grande do Sul - Brasilia. 5. *Agaricaceae*. **Iheringia, série Botânica**, n. 8, p. 296-450, 1961a.

RICK, J. Basidiomycetes eubasidii in Rio Grande do Sul. Brasilia. 6. **Iheringia, série Botânica**, n. 9, p. 451-480, 1961b.

RINALDI, A.C.; COMADINI, O.; KUYPER, T.W. Ectomycorrhizal fungal diversity: separating the wheat from the chaff. **Fungal Divers.**, n. 33, p. 1 – 45, 2008.

SANON, K.B.; et al. Morphological and molecular analyses in *Scleroderma* species associated with some Caesalpinoid legumes, *Dipterocarpaceae* and *Phyllanthaceae* trees in southern Burkina Faso. **Mycorrhiza**, n. 19, p. 571-584, 2009.

SINGER, R.; DIGILIO, A.P.L. Prodrómo de la Flora Agaricina Argentina. **Lilloa**, n. 25, p. 5 – 461, 1951.

SINGER, R.; DIGILIO, A.P.L. Las boletáceas austro-sudamericanas. **Lilloa**, n. 28, p. 247 – 268, 1957.

SINGER, R.; DIGILIO, A.P.L. Las boletáceas de sudamerica tropical. **Lilloa**, n. 30, p. 141 – 164, 1960.

SINGER, R.; ARAÚJO, I. Litter decomposition and ectomycorrhiza in Amazonian forests. **Acta Amazonica**, n. 9, p. 25 – 41, 1979.

SINGER, R.; ARAUJO, I.; IVORY, M.H. The ectotrophically mycorrhizal fungi of the neotropical lowlands, especially central Amazonia. *Beih Nova Hedwigia*, n. 77, p. 1–352, 1983.

SINGER, R. The *Boletineae* of Florida with notes on extralimital species. I. The *Strobilomycetaceae*. **Farlowia**, n. 2: p. 97 – 141, 1945.

SINGER, R. The *Agaricales* in modern taxonomy. **Lilloa**, n. 22, p. 1 – 832, 1949, [published in 1951].

SINGER, R. Type Studies on Basidiomycetes. IV. *Lilloa*, n. 23, p. 147 – 246, 1950.

SINGER, R. Type Studies on Basidiomycetes VI. **Lilloa**, n. 26, 57 – 159, 1953.

SINGER, R. Boletes and related groups in South America. **Nova Hedwigia**, n. 7, p. 93 – 132, 1964.

SOBESTIANSKY, G. Contribution to a macromycete survey of the States of Rio Grande do Sul and Santa Catarina in Brazil. **Braz. Arch. Biol. Technol.**, n. 48, p. 437 – 457, 2005.

STIVJE, T.; MEIJER, A.A.R. de. Macromycetes from the state of Paraná, Brazil. 4. The psychoactive species. **Arq. Biol. Technol.**, n. 36, p. 313 – 329, 1993.

SULZBACHER, M.A.; *et al.* Nota sobre os fungos *Agaricales* (*Basidiomycota*) da Estação Ecológica de Aracuri, Esmeralda, Rio Grande do Sul, Brasil. **Biociências**, n. 15, p. 143 – 153, 2007.

SULZBACHER, M.A.; *et al.* *Chondrogaster pachysporus* in a *Eucalyptus* plantations of southern Brazil. **Mycotaxon**, n. 113, p. 377-384, 2010.

TEDERSOO L.; *et al.* Ectomycorrhizas of *Coltricia* and *Coltriciella* (*Hymenochaetales*, *Basidiomycota*) on *Caesalpiniaceae*, *Dipterocarpaceae* and *Myrtaceae* in *Seychelles*. **Mycol Prog**, n. 6, p. 101–107, 2008.

TEDERSOO, L.; MAY, T.W.; SMITH, M.E. Ectomycorrhizal lifestyle in fungi: global diversity, distribution, and evolution of phylogenetic lineages. **Mycorrhiza**, n. 20, p. 217 – 263, 2009.

THOEN, D. Looking for ectomycorrhizal trees and ectomycorrhizal fungi in tropical Africa. In: Issac, S.; *et al.* Eds. **Aspects of Tropical Mycology**. Cambridge University Press. 1992.

TRIERVEILER-PEREIRA, L.; BASEIA, I.G. A checklist of the Brazilian gasteroid fungi (*Basidiomycota*). **Mycotaxon**, n. 108, p. 441 – 444, 2009.

VELOSO, H.P.; FILHO A.L.R.; LIMA, J.C.A. **Classificação da vegetação brasileira, adaptada a um sistema universal**. Fundação Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), Rio de Janeiro, 1991.

WARTCHOW, F.; MAIA, L.C. The Neotropical *Amanita crebresulcata* Bas: new citation from northeast Brazil. **Hoehnea**, n. 34, p. 131 – 134, 2007.

WARTCHOW, F.; TULLOSS, R.E.; CAVALCANTI, M.A.Q. *Amanita lippiae* – a new species from the semi-arid caatinga region of Brazil. **Mycologia**, n. 101, p. 864 – 870, 2009.

WARTCHOW, F.; CAVALCANTI, M.A.Q. *Lactarius rupestris* - a new species from the Brazilian semi-arid region. **Mycotaxon**, n. 112, p. 55 - 63, 2010.

WATLING, R.; MEIJER, A. de. Macromycetes from the state of Paraná, Brazil. **Edinburgh J. Bot.**, n. 54, p. 231 – 251, 1997.

WILSON, A.W.; HOBBI, E.A.; HIBBETT, D.S. The ectomycorrhizal status of *Calostoma cinnabarinum* determined using isotopic, molecular, and morphological methods. **Canadian Journal of Botany**, n. 85, p. 385 – 393, 2007.

4 CAPÍTULO 3

***CHONDROGASTER PACHYSPORUS* IN A *EUCALYPTUS* PLANTATION OF SOUTHERN BRAZIL**

4.1 Abstract

Chondrogaster pachysporus is reported for the first time in Brazil. It is similar to *C. angustisporus*, also known from southern Brazil, basically differing in size and type of spore ornamentation, which are produced in monosporic basidia for the latter. The hypogeous sequestrate specimens were collected in *Eucalyptus saligna* plantation in the state of Rio Grande do Sul. Descriptions, photographs, and line drawings of the specimens are presented.

Key words – ectomycorrhiza, false-truffle, *Hysterangiales*, *Mesophelliaceae*

4.2 Resumo

Chondrogaster pachysporus é relatada pela primeira vez no Brasil. É semelhante a *C. angustisporus*, também conhecida no sul do Brasil, diferindo basicamente no tamanho e no tipo de ornamentação dos basidiósporos, que são produzidos em basídios monospóricos. Os espécimes hipógeos sequestrados foram coletados em plantações de *Eucalyptus saligna* no Estado do Rio Grande do Sul. Descrições, fotografias e desenhos dos espécimes são apresentados.

Palavras-chave – ectomicorriza, falsa-trufa, *Hysterangiales*, *Mesophelliaceae*

4.3 Introduction

Chondrogaster Maire is a genus of sequestrate fungi characterized by the hypogeous, enclosed basidiomata which bears a loculate gleba composed by tramal plates where basidia and basidiospores are produced (CASTELLANO et al., 1989). The genus is close related to *Hysterangium* Vittad., from which it was segregated and

differs in the lack of a distinct collumela and presence of a mycelial mass covering the whole basidiomata (GIACHINI et al., 2000). Currently two species are known, both associated to *Eucalyptus* and possibly native from Australia, from where spread throughout areas where *Eucalyptus* plantations were settled for forestry purposes. *Chondrogaster angustisporus* Giachini, Castellano, Trappe & Oliveira, described as a new species from Australia, Uruguay and southern Brazil (GIACHINI et al., 2000), is possibly the only known South American records for the genus. *Chondrogaster pachysporus*, the type species, is so far known from the Mediterranean zone (Europe and Africa), North America and Australia (LAGO; CASTRO, 2004). Recent studies on the biology and taxonomy of sequestrate fungi in Brazil and neighboring countries are scarce and limited to a few local revisions from Brazil (GIACHINI et al., 2000; CORTEZ et al., 2008a) and Argentina (NOUHRA et al., 2005; 2008). In the present paper, we report the occurrence of *C. pachysporus* in southern Brazil, adding one more taxon to the evergrowing Brazilian fungal species list.

4.4 Material and methods

Fieldwork was done in an *Eucalyptus saligna* Sm. plantation at the Experimental Forestry Station (FEPAGRO), in the municipality of Santa Maria, central region of the state of Rio Grande do Sul, southern Brazil (29°45' S, 53°43'W). The site comprises an area of 280 ha covered with native [*Apuleia leiocarpa* J.F. Macbr., *Senna multijuga* (L.C. Richard) H.S. Irwin & Barneby, *Tabebuia* spp.] and exotic tree species (*Hovenia dulcis* Thunb., *Platanus × aceriifolia* Willd., *Pinus* and *Eucalyptus* spp.). Soil is of the Hapludult type, which is deep, imperfectly drained and with low natural fertility (ABRÃO et al., 1988; STRECK et al., 2008). Climate is subtropical humid (Cfa) according to Köppen's system, with mean temperature values for the warmest month higher than 22°C (MENEGAT, 1998). Annual rainfall is about 1769 mm, with well distributed rains throughout the year (SCHUMACHER et al., 2008).

Fresh basidiomes were collected and photographed *in situ*, then analyzed macro- and microscopically following Brundrett et al. (1996) and Castellano et al. (2004). Color names and codes follow Kornerup; Wanscher (1978). Microscopic analysis of the basidiomata comprised measurements of 30 microstructures (basidiospores, basidia and hyphae), which were drawn under a light field microscope. Specimens are deposited in the herbaria of the Department of Biology,

“Universidade Federal de Santa Maria” (SMDB) and the Institute of Biosciences, “Universidade Federal do Rio Grande do Sul” (ICN).

4.5 Results and discussion

Chondrogaster pachysporus Maire, Bull. Soc. Mycol. Fr. 40: 313, 1924. FIG. 1–8

BASIDIOMATA hypogeous, 8–23 mm in width, 7–11 mm high, depressed globose to subglobose, aggregated in clusters within a common mycelium. PERIDIUM <1 mm thick, greyish beige (4C2) when fresh, dull red (9C4) when bruised, glabrous or covered by scattered to numerous rhizomorphs. GLEBA composed by non-gelatinized, radially arranged locules, greyish green (28C3) to dull green (29D3) at younger stages, to finally olive (1F5) or blackish at maturity. RHIZOMORPHS white, numerous, arising from several points of attachment in the basidiomata surface. COLUMELLA absent.

BASIDIOSPORES 12.5–16.5 × 6–9 μm (ornamentation excluded), subfusoid, ellipsoid to broad ellipsoid, apex and base tapered, some with a shortly mucronate apex; sterigmal attachment persistent at maturity; in KOH, they are hyaline when young to finally pale yellowish brown at maturity; wall smooth when young, becoming irregularly reticulate at maturity and of variable diameter (<3 μm). BASIDIA 31–52 × 4–16.5 μm , hyaline, subcylindrical, with constricted base and apex, single-spored, clamp connections common, collapsed in mature specimens. PERIDIUM separable from the gleba, 2-layered: a) external layer formed by yellowish brown, thick-walled, clamped hyphae (4.2–11 μm diam.) mixed with abundant soil particles; b) internal layer composed by hyaline, smooth and thin-walled hyphae, compactly interwoven, filamentous to subglobose 4–27.5 μm diam. TRAMA 30–100 μm thick, not gelatinized in young basidiomata, becoming gelatinized in mature specimens, constituted by hyaline, smooth, thin-walled, and compactly interwoven hyphae, 3.2–5.5 μm diam., clamp connections rare.

DISTRIBUTION: Australia and United States (BOUGHER; LEBEL, 2001), North Africa (LAGO; CASTRO, 2004), Spain (LAGO; CASTRO, 2004; MORENO-ARROYO et al., 2005), Portugal (CALONGE; VIDAL, 2000), France and Italy (LAGO; CASTRO, 2004). Probably widespread with eucalypt trees.

SPECIMEN EXAMINED: BRAZIL. Rio Grande do Sul: Santa Maria, Boca do Monte District, Estação Experimental de Silvicultura-FEPAGRO, 21 April 2009, *leg. M.A. Sulzbacher 191* (SMDB 12.920); *ibid.*, 06 May 2009, *leg. M.A. Sulzbacher 192* (SMDB 12.921); *ibid.*, 10 July 2009, *leg. M.A. Sulzbacher 196* (SMDB 12.922; ICN 154459).

REMARKS: In the past, the genus *Chondrogaster* was considered as a member of the *Melanogasteraceae* E. Fisch. (Zeller 1949), then *Hysterangiaceae* E. Fisch. (Bougher; Lebel 2001), and finally *Chondrogastraceae* Locq. (Giachini et al. 2000). However, after molecular phylogenetic analysis, the genus is currently placed in the *Mesophelliaceae* (Cunningham) Jülich of the *Hysterangiales* K. Hosaka & Castellano, subclass *Phallomycetidae* K. Hosaka, Castellano & Spatafora (Hosaka et al. 2006). *Chondrogaster pachysporus*, originally described by R. Maire from Mauritania (Africa), constitutes the type species of the genus, which until recently was considered monotypic (Giachini et al. 2000). Although it is associated to widely cultivated *Eucalyptus* spp. in the world, this species has been poorly documented, probably due to its underground cryptic habitat and also because few mycologists have paid attention to this inconspicuous species. As far as we know, this is the first record for South America. As mentioned earlier, *C. angustisporus* has been reported, from southern Brazil, Australia, and Uruguay (Giachini et al. 2000), and differs from *C. pachysporus* in the narrower size of the basidiospores ($10\text{--}15 \times 4\text{--}5 \mu\text{m}$), which are covered by a less coarse ornamentation, and the presence of mostly bisporic basidia within the glebal locules (Lago; Castro 2004). In contrast to our specimens, which were collected under *E. saligna*, *C. angustisporus* was found under *E. dunnii* Maiden in southern Brazil, as well several other Australian eucalyptus species (Giachini et al. 2000). Lupatini et al. (2008) characterized southern Brazilian strains of *C. angustisporus* through mycorrhizal morphotyping and ITS (rRNA) sequences. Their results supported strong relationships among other taxa in the gomphoid-phalloid clade (e.g. *Gautieria*, *Gloeocantharellus*, *Gomphus*, *Hysterangium*, *Ramaria*, and *Sphaerobolus*). In two recent molecular and phylogeographic analysis of *Hysterangiales* (Hosaka et al. 2006, 2008), *Andebbia pachythrix* (Cooke & Masee) Trappe, Castellano & Amaranthus clustered with *C. pachysporus* and *C. angustisporus*, indicating a close relationship between these taxa.

With the present report, the distribution of *C. pachysporus* is considerably extended within southern Brazil. This result arises from ongoing investigations on the hypogeous fungi associated to eucalyptus in the state of Rio Grande do Sul. With the progress of this research we hope to provide an account of the diversity and new data on the biology of this fungal species and potentially the genus.

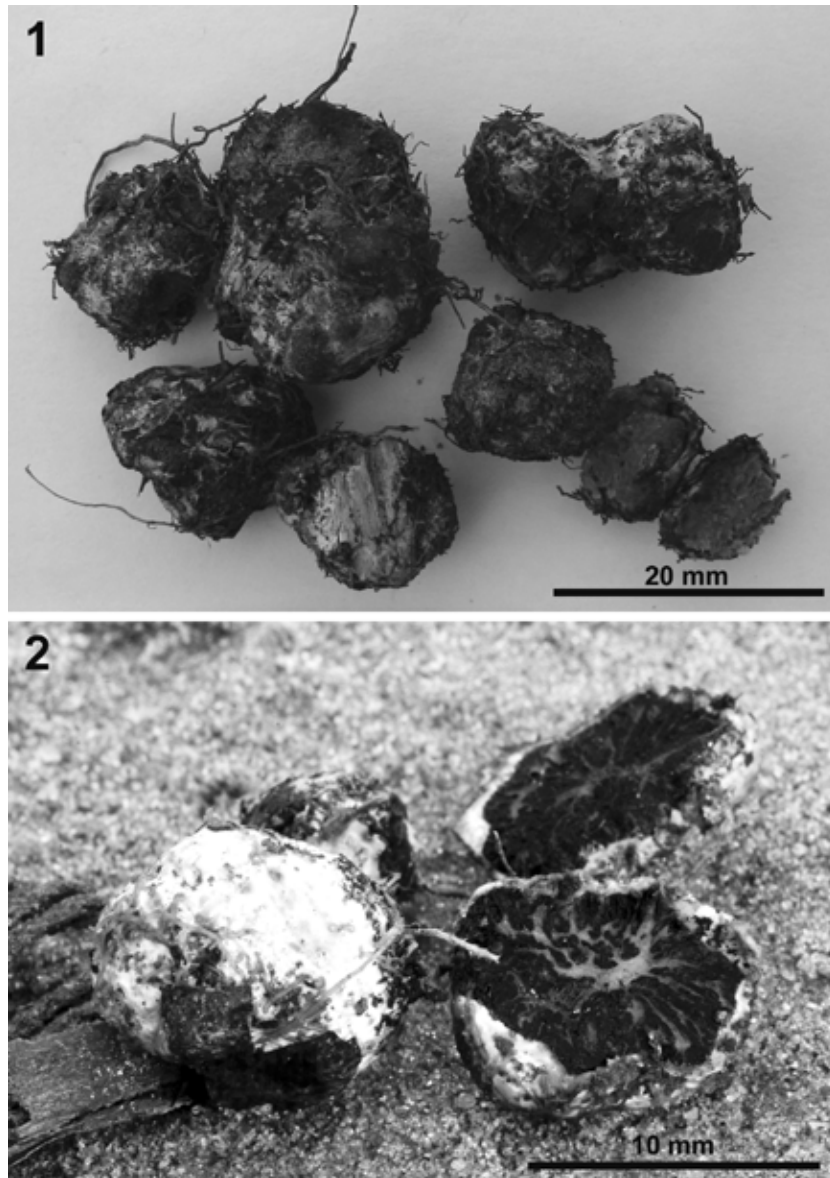


Figura 1 e 2 – Basidiomata of *Chondrogaster pachysporus*.

4.6 Acknowledgments

The authors thank Dr. Eduardo R. Nouhra (Universidad Nacional de Córdoba, Argentina) and Dr. Marisa L. Castro (Universidad de Vigo, Spain) for pre-submission

reviews of the manuscript. Dr. Fabrício A. Pedron and MSc. Fábio P. Menezes for their help in soil classification, and CAPES and CNPq (Brazil) for financial support.

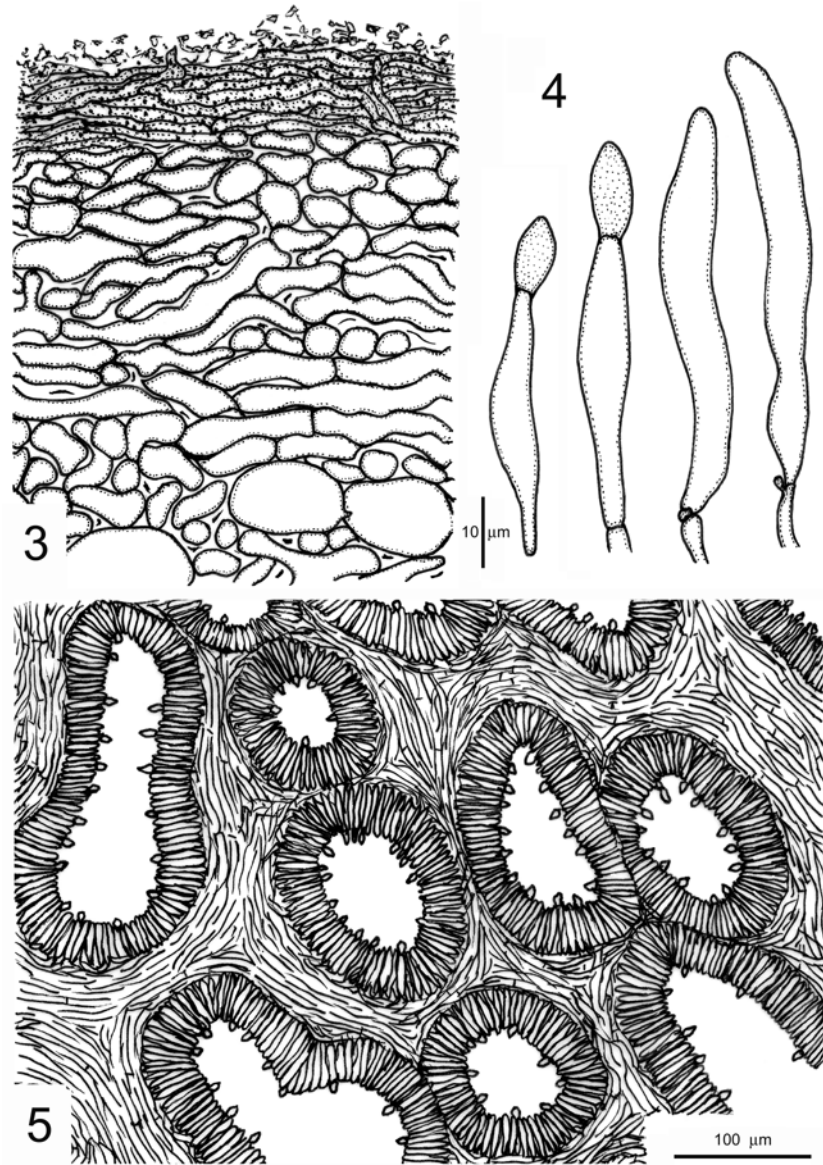


Figura 3 a 5 – *Chondrogaster pachysporus*. 3. Peridium. 4. Basidia. 5. Gleba structure.

4.7 References

ABRÃO, P.U.R; GIANLUPPI, D.; AZOLIM, M.A.D. Levantamento semidetalhado dos solos da Estação Experimental de Silvicultura de Santa Maria. **Publ. Inst. Pesq. Rec. Nat. Renov.**, n.21, p. 1 – 75, 1988.

BOUGHER, N.L.; LEBEL, T. Sequestrate (truffle-like) fungi of Australia and New Zealand. **Austr. Syst. Bot.**, n. 14, p. 439 – 484, 2001.

BRUNDRETT, M.; *et al.* **Working with mycorrhizas in forestry and agriculture.** Canberra (Australia), ACIAR, 1996.

CALONGE, F.D.; VIDAL, J.M. Contribución al catálogo de los hongos hipogeos de Portugal. **Bol. Soc. Micol. Madrid**, n. 25, p. 251 – 264, 2000.

CASTELLANO, M.A.; *et al.* **Key to spores of the genera of hypogeous fungi of north temperate forests with special reference to animal mycophagy.** Eureka (USA). Mad River, 1989.

CASTELLANO, M.A.; TRAPPE, J.M.; LUOMA, D.L. Sequestrate fungi. Pp. 197–213. In: Foster MS, Mueller GM, Bills GF (eds.) *Biodiversity of Fungi: inventory and monitoring methods.* Burlington (USA): Academic Press., 2004.

CORTEZ, V.G.; *et al.* Two sequestrate cortinarioid fungi from Rio Grande do Sul, Brazil. **Hoehnea**, n. 34, p. 513 – 518, 2008a.

GIACHINI, A.J.; *et al.* Ectomycorrhizal fungi in exotic *Eucalyptus* and *Pinus* plantations in southern Brazil. **Mycologia**, n. 92, p. 1166 – 1177, 2000.

HOSAKA, K.; *et al.* Molecular phylogenetics of the gomphoid-phalloid fungi with an establishment of the new subclass *Phallomycetidae* and two new orders. **Mycologia**, n. 98, p. 949 – 959, 2006.

HOSAKA, K.; CASTELLANO, M.A.; SPATAFORA, J.W. Biogeography of *Hysterangiales* (*Phallomycetidae*, *Basidiomycota*). **Mycol. Res.**, n. 112, p. 448 – 462, 2008.

KORNERUP, A.; WANSCHER, J.H. **Methuen handbook of colour.** London (UK): Eyre Methuen. 1978.

LAGO, M.; CASTRO, M.L. Macrobasidiomicetos asociados a *Eucalyptus* en la Península Ibérica. **Fungi Non Delineati**, n. 27, p. 1 – 84, 2004.

LUPATINI, M.; *et al.* Mycorrhizal morphotyping and molecular characterization of *Chondrogaster angustisporus* Giachini, Castellano, Trappe & Oliveira, an ectomycorrhizal fungus from *Eucalyptus*. **Mycorrhiza**, n. 18, p. 437 – 442, 2008.

MENEGAT, R. **Environmental atlas of Porto Alegre.** Porto Alegre (Brazil): Ed. UFRGS, 1998.

MORENO-ARROYO, B.; GÓMEZ, J.; PULIDO, E. **Tesoros de nuestros montes. Trufas de Andalucía.** Córdoba (Spain): Consejería de Medio Ambiente, Junta de Andalucía, 2005.

NOUHRA, E.R.; *et al.* Morphological, molecular and ecological aspects of the South American hypogeous fungus *Alpova austroalnicola* sp. nov. **Mycologia**, n. 97, p. 598 – 604, 2005.

NOUHRA, E.R.; *et al.* Occurrence of ectomycorrhizal, hypogeous fungi in plantations of exotic tree species in central Argentina. **Mycologia**, n. 100, p. 752 – 759, 2008.

SCHUMACHER, M.V.; *et al.* Biomassa e nutrientes em um povoamento de *Hovenia dulcis* Thunb., plantado na Fepagro Florestas, Santa Maria, RS. **Ciência Florestal**, n. 18, p. 27 – 37, 2008.

STRECK, E.V.; *et al.* **Solos do Rio Grande do Sul**. 2nd ed. Porto Alegre (Brazil): EMATER, 2008.

ZELLER, S.M. Keys to the orders, families, and genera of the Gasteromycetes. **Mycologia**, n. 41, p. 36 – 58, 1949.

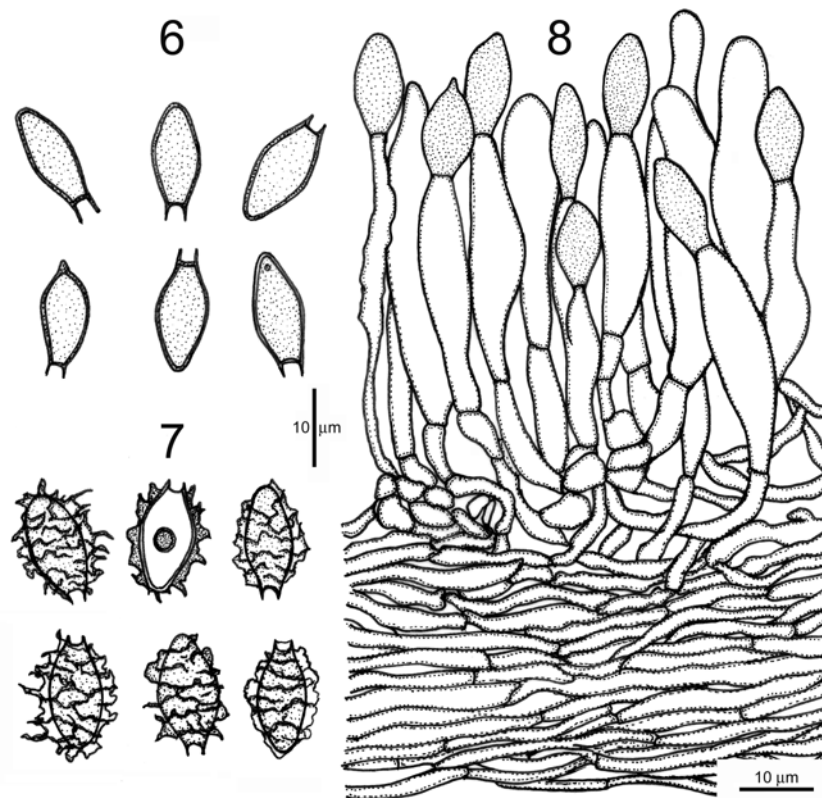


Figura 6 a 8 – *Chondrogaster pachysporus*. 6. Immature basidiospores. 7. Mature basidiospores. 8. Details of the hymenium and trama.

5 CAPÍTULO 4

MORPHOLOGICAL CHARACTERIZATION OF HYPOGEOUS FUNGI (TRUFFLE-LIKE FUNGI, *BASIDIOMYCOTA*) FROM *EUCALYPTUS* PLANTATIONS IN SOUTHERN BRAZIL

5.1 Abstract

Species of hypogeous fungi (truffle-like fungi, *Basidiomycota*) were collected in *Eucalyptus* plantations in the state of Rio Grande do Sul, Brazil. The survey was based on macro-and micromorphological examination of fresh and dry herbarium specimens. *Chondrogaster pachysporus* Maire, *Descomyces albus* (Berk.) Bougher & Castellano, *Hysterangium affine* Masee, *Hysterangium inflatum* Rodway and *Setchelliogaster tenuipes* (Setch.) Pouzar, are reported for the State of Rio Grande do Sul being *Descomyces albus* reported for the first time in that State. *Hysterangium affine* and *Hysterangium inflatum* are new records for Brazil. The sequestrate species were found associated with eucalypts, with which they are ectomycorrhizal partners. Detailed descriptions and illustrations of the studied collections are presented, including a key for the identification of the species. Scanning electron microphotographs showing the microscopic features, i.e., basidiospores ornamentation, hyphae of rhizomorph and stiptipellis are also given.

Key words: ectomycorrhiza, sequestrate fungi, gasteroid fungi

5.2 Resumo

Espécies de fungos hipógeos (truffle-like fungi, *Basidiomycota*) foram coletadas em plantações de *Eucalyptus* no Estado do Rio Grande do Sul, Brasil. O levantamento foi baseado em análises macro e micromorfológicas, de espécimes frescos ou secos de herbário. *Chondrogaster pachysporus* Maire, *Descomyces albus* (Berk.) Bougher & Castellano, *Hysterangium affine* Masee, *Hysterangium inflatum* Rodway e *Setchelliogaster tenuipes* (Setch.) Pouzar, são relatados para o Rio Grande do Sul enquanto *Descomyces albus* é relatada pela primeira vez no Estado.

Hysterangium affine e *Hysterangium inflatum* são citados pela primeira vez para o Brasil. As espécies de fungos sequestrados foram encontradas associadas com eucaliptos, com quem formam associações ectomicorrízicas. Detalhadas descrições e ilustrações das coleções estudadas são apresentados, incluindo uma chave para a identificação das espécies. Microfotografias eletrônicas de varredura mostrando as características microscópicas, ou seja, ornamentação dos basidiósporos, hifas das rizomorfas e da estiptipelis também são apresentadas.

Palavras-chave: ectomicorrizas, fungos sequestrados, gasteromycetes

5.3 Introduction

The present paper is part of a survey to determine the diversity of hypogeous fungi (*Basidiomycota*) occurring in *Eucalyptus* plantations in southern Brazil, especially in the states of Rio Grande do Sul and Santa Catarina. Extensive plantations of *Eucalyptus* spp. have been (and continue to be) established in southern Brazil since the early 20th century (LIMA, 1993). Various hypogeous, ectomycorrhizal fungi were introduced accidentally but fortuitously along with these economically important trees, and became established in the exotic plantations as vital symbionts of the trees (NOUHRA et al., 2008). The Ectomycorrhizal symbiosis represents one of the most prominent and ecologically crucial mutualistic associations in terrestrial habitats (RINALDI et al., 2008). Based on literature searches, these authors estimated the ectomycorrhizal fungal (ECM) species richness to be around 7.750 species in the globe. However, based on estimates of known and unknown macromycetes diversity, a final estimative of ECM species richness would likely be between 20.000 and 25.000 species (RINALDI et al., 2008). In Brazil, there is limited information (when compared to other countries) about ECM, their distribution and ecological implications. A similar scenario is seen for hypogeous fungi, in which very few studies have paid attention to this component when surveying for fungi. Singer; Araújo (1979) found 38 ECM species in the central tropical Amazonian forest, which was later complemented (SINGER et al., 1983). Giachini et al. (2000) in an survey of ECM fungi in plantations of introduced *Pinus* and *Eucalyptus* in the state of Santa Catarina (southern Brazil), found 49 species including the description of three new species of hypogeous fungi associated with

Eucalyptus plantations: *Chondrogaster angustisporus* Giachini, Castellano, Trappe & Oliveira, *Descomyces giachinii* Trappe, Oliveira, Castellano & Claridge and *Scleroderma bougheri* Trappe, Castellano & Giachini. More recently, Cortez et al. (2008) reported two species in a survey conducted in the state of Rio Grande do Sul, also southern Brazil: *Descomyces albellus* (Masse & Rodway) Bougher & Castellano and *Setchelliogaster tenuipes* (Setch.) Pouzar. Little information is available about the ECM associations with plantations in that state. The aim of the present study was to determine the diversity of ectomycorrhizal hypogeous fungi associated with *Eucalyptus* plantations in the State of Rio Grande do Sul. While revising the hypogeous fungi of Rio Grande do Sul (SULZBACHER et al., 2010), several specimens were studied and the results are presented and discussed in this paper.

5.4 Material and Methods

Fresh specimens were collected in plantations of *Eucalyptus* spp. in the central region of the state of Rio Grande do Sul, in the municipalities of Caçapava do Sul, Dilermando de Aguiar, Santa Maria and Vila Nova do Sul (Fig. 9). This sample was taken between May 2009 and July 2010. All collections obtained are preserved either at the SMDB (Department of Biology of the Universidade Federal de Santa Maria) or at the ICN (Institute of Biosciences, "Universidade Federal do Rio Grande do Sul") herbaria. The fungal fruiting bodies were collected at random in the plantations, in 1000 m² plots. The basidiomata were located by raking the soil litter (CLARIDGE et al., 2000). The collected basidiomata were photographed *in situ*, then analyzed macro- and microscopically following previously described methods (MONTECCHI; SARASINI, 2000). Color codes in the descriptions are from Kornerup; Wanscher (1978). Microscopic analysis of the basidiomata comprised the measurements of at least 30 microstructures (basidiospores, basidia and hyphae), which were drawn under a light field microscope. For scanning electron microscopy (SEM), dried material (from herbarium) was mounted directly on aluminium stubs and coated with a 5 nm thick layer of gold using a Balzers SCD 050 Sputter. Stubs were examined in a Jeol JSM-6360 LV scanning electron microscope at the Universidade Federal do Paraná.

5.5 Results

In total 15 collections of hypogeous fungi were found, and five species were identified: *Chondrogaster pachysporus* Maire, *Descomyces albus* (Berk.) Bougher & Castellano, *Hysterangium affine* Masee, *Hysterangium inflatum* Rodway and *Setchelliogaster tenuipes* (Setch.) Pouzar. Detailed descriptions and illustrations of the studied collections are presented, including a key for the identification of the species.



Figura 9 – Map of the state of Rio Grande do Sul showing the survey region.
Fonte: Geoprocessamento – UNISC.

TAXONOMY

Order *Agaricales*

Family *Cortinariaceae* R. Heim ex Pouzar

Descomyces albus (Berk.) Bougher & Castellano, *Mycologia* 85: 280. 1993.

FIG. 10-12, 32-33, 39-40

BASIDIOMES gastroid, partially hypogeous, subglobose to globose in shape, 7-17 mm diam., 8-12 mm high. PERIDIUM white (KW 1A1) or light yellow (KW 1A4) to dark yellow (KW 4C8), 0.2 mm thick, smooth and dry or slightly moist when fresh, covered by soil, opening by irregular dehiscence at the top of the basidiomes, rhizomorphs absent or poorly developed. STIPE absent. COLUMELLA usually absent or reduced to a basal disc. GLEBA loculate, composed by anastomosed lamellae, yellowish brown (KW 5E7-5E8) at maturity. BASIDIOSPORES 11 – 17.5 × 7 – 9 µm, ovoid to limoniform in frontal view, ovoid to fusiform in profile, color rusty under KOH, walls very thick and ornamented by sub-reticulate to verrucose perisporium, 0.5 – 2.5 µm. Under SEM the basidiospores is limoniform and the ornamentation of the wall is reticulate wavy. BASIDIA 29.5 – 48.6 × 7.5 – 11 µm, clavate, mainly bisporic. BASIDIOLES 12 – 16 × 5 – 8 µm, clavate, wall hyaline and thin, basal clamp present. PERIDIUM two layered: the external layer formed by non-gelatinized, ascendant to prostrate hyphae, widely, 4 – 13.5 µm diam., with thickened, golden yellow walls, smooth, and all septa is clamped; the internal layer is composed by hymeniform layer and composed by thin-walled, hyaline hyphae, end-cells clavate, pyriform, or vesiculose 19 – 56 × 10 – 26 µm. HYMENOPHORAL TRAMA regular to subregular hyphae, 3 – 10 µm diam., composed by thin-walled, hyaline, smooth. CLAMP CONNECTIONS present in most septa. RHIZOMORPHS not observed.

SPECIMEN EXAMINED: BRAZIL. Rio Grande do Sul: **Santa Maria**, Boca do Monte District, Estação Experimental de Silvicultura-FEPAGRO, 31 July 2009, *leg. M.A. Sulzbacher 199* (SMDB); 22 July 2010, *leg. G. Coelho & M.A. Sulzbacher 223* (SMDB). **Vila Nova do Sul**, 30°20' 23.8"S, 53°51'58.4"W, near to the BR 290, 09 november 2009, *leg. M.A. Sulzbacher 203* (SMDB). **Caçapava do Sul**, Minas do Camaquã, 03 december 2009, *leg. M.A. Sulzbacher 207* (SMDB); *leg. M.A. Sulzbacher 208* (SMDB).

HABITAT: subhypogeous, under soil and dead *Eucalyptus* leaves, ectomycorrhizal.

HOST SPECIES: *Eucalyptus saligna*.

KNOWN DISTRIBUTION: widespread in *Eucalyptus* plantations throughout the world (LAGO; CASTRO, 2004; BOUGHER; CASTELLANO, 1993). Probably indigenous to Australia (BOUGHER; CASTELLANO, 1993). In Brazil, the only records of this species outside Rio Grande do Sul are for the state of Santa Catarina (GIACHINI et al., 2000).

REMARKS: The genus *Descomyces* is characterized by its rusty colored basidiospores with a distinct verrucose to subreticulate perisporium and a non-gelatinized peridium that is trichodermial to epithelial (BOUGHER; CASTELLANO, 1993). *Descomyces* was segregated from *Hymenogaster* by spore morphology and peridium structure in 1993 by Bougher & Castellano (1993). Nevertheless, some authors (BEATON et al., 1985; MONTECCHI; SARASINI, 2000) are still using the epithet *Hymenogaster*. *Descomyces* is a valid genus, as pointed out by Bougher (2009). *Descomyces* is quite similar to the genera *Setchelliogaster* and *Descolea*, specially due to the ornamentation of the spores and mycorrhizal structures (BOUGHER; CASTELLANO, 1993). Three species of *Descomyces* exhibit many taxonomical and ecological affinity: *Descomyces albus*, *D. albellus* and *D. giachinii*. The only significant difference among them is related to the structure of the peridiopellis (LAGO; CASTRO, 2004), which is trichodermial in *D. albellus* and *D. giachinii* while epithelial in *D. albus* (BOUGHER; CASTELLANO, 1993; CORTEZ et al., 2008; LAGO; CASTRO, 2004). NOUHRA et al. (2008) described the new species *D. varians* Trappe & Claridge based on the variable development of the polycystoderm epithelium and the ornamentation of the spores. This species is similar to *D. albus*, differing only (*D. albus*) by a polycystoderm epithelium (NOUHRA et al., 2008). Lago; Castro (2004) refer that they started molecular studies for better understand this species complex. Giachini et al. (2000) reported *D. albus* for the first time in Brazil in plantations of *Eucalyptus dunnii* in Santa Catarina. This is the first record of the species for the state of Rio Grande do Sul.

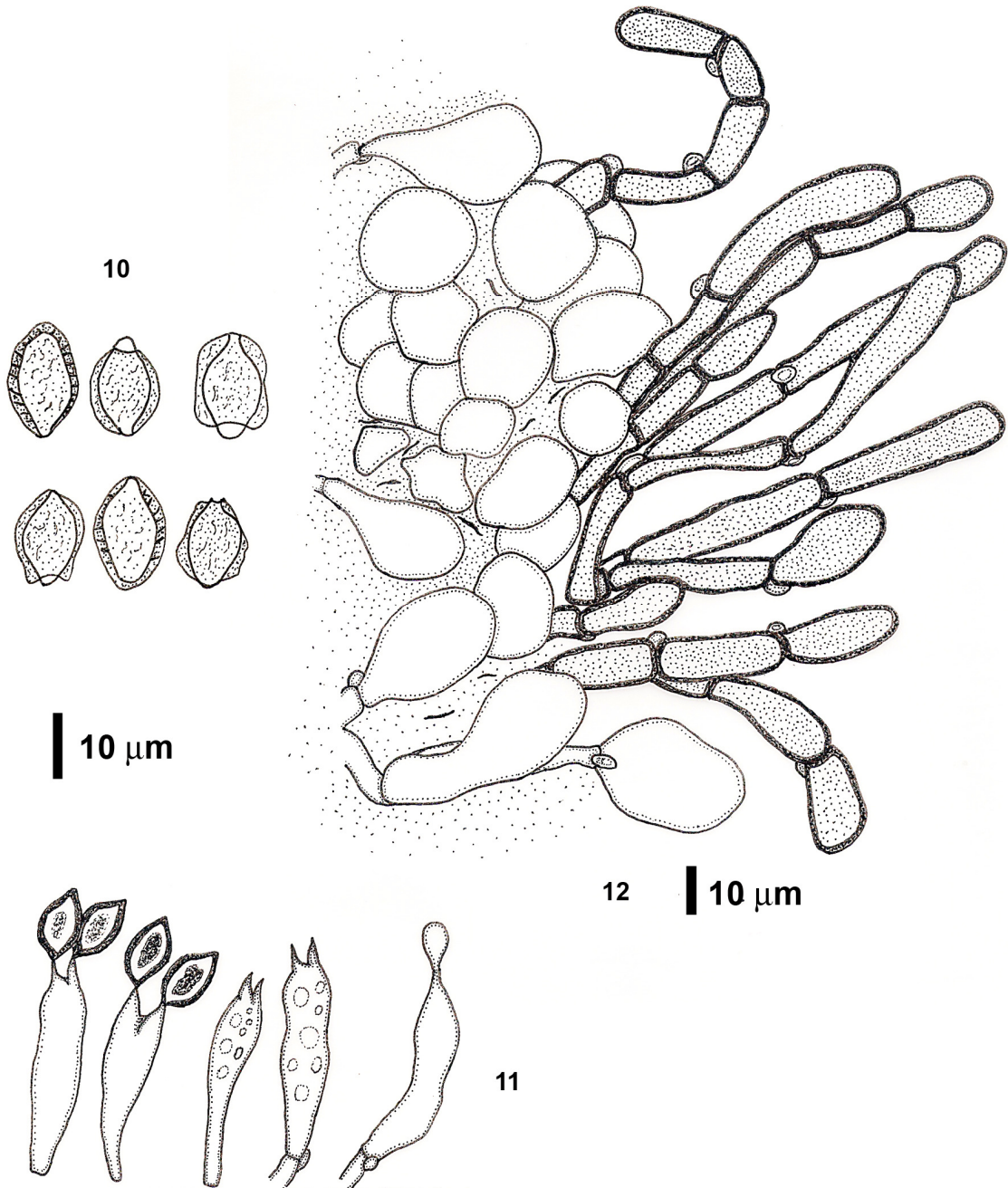


Figura 10 a 12 – *Descomyces albus*. 10. Basidiospores. 11. Basidia. 12. Details of the peridiopellis showing the inner peridiopellis elements composed by two layers; outer layer with thick-walled, clamped hyphae; inner layer with hyaline and inflated hyphae.

Setchelliogaster tenuipes (Setch.) Pouzar, *Česká Mykol.* 12: 34. 1958.

FIG. 13-18, 19-24, 34-36, 41-44

BASIDIOMES secotioid, stipitate and with a globose and enclosed pileus, 25–39 mm high. PILEUS 7–13 mm diam., 9–12 mm high, conic to subglobose. PERIDIUM reddish brown (9E8) to dark brown (9F6), margin of the pileus (peridium) concolor to the stipe, olive brown (4D7), velutinose; 0.5 to 1 mm thick, surface dry and smooth. STIPE 18–23 × 2–4 mm, sinuous or erect, color olive brown (4D7), with a bulbous base slightly developed, attached to soil and roots by whitish and grayish yellow (1B6) thin rhizomorphs; surface striate and fibrillate, in some stipe a white surface is present; hollow. COLUMELLA continuous with the stipe, crossing the entire extension of the gleba. GLEBA light brown (7D7) to pastel red (7A5) near to the stipe, loculate, formed by anastomosed lamellae. BASIDIOSPORES 12.5–17 × 8.5–10 µm, ovoid to ellipsoid in both face and side views, rusty under KOH 5%, with a punctuate and thickened wall, apiculus prominent; under SEM, basidiospore surface presents several irregular depressions varying in size and form. BASIDIA 28–47 × 7–8.5 µm, clavate to cylindrical, hyaline and thin walled, mainly producing two basidiospores, sterigmata 3–6 µm long. CHEILOCYSTIDIA 27.7–36 × 9–15 µm, hyaline and thin-walled, lecythiform to lageniform, with a distinct capitate, globose apex 3–4.5 µm diam. PERIDIUM two layered: the external layer formed by pseudoparenchymatic, composed by subglobose hyphae, 8–37.5 µm diam., smooth, with thin- to slightly thickened walls, hyaline to yellowish brown walls, over a filamentous layer of hyaline to yellowish, with or without granular, hyaline or yellowish-brown content, 5–14 µm diam., clamp connections present. HYMENOPHORAL TRAMA subparallel, hyphae 4–12 µm diam., with thin walls, hyaline or yellowish-brown pigments in bands, hyphae with elongate-inflated elements 11–15 µm diam., with clamp connections. STIPTIPELLIS subparallel, hyphae 1.7–9 µm diam., with thin- to thick-walled, with clamp connections, hyaline, yellowish or with granulose yellow brown contents, surface with ornamented bands. CAULOCISTYDIA is not seen in all surface of the stipe. RHIZOMORPHS abundant, 2–8 µm diam., formed by hyphae hyaline, smooth, or with the surface encrusted with granular, angular crystals 2.5 – 6.5 µm diam., or an amorphous mass, crystals rapidly dissolving in concentrated KOH, slowly dissolving in 5% KOH, thin-walled, clamps very frequently, with irregularly branched, 7–14 µm diam., thinner rhizomorphs

undifferentiated, 2–6 μm diam., hyaline. Many emanating hyphae in “H” form, thin-walled, and with scarcely ampullately inflated hyphal portions (3–10 μm diam.). Some hyphae with a thickish or thick wall, with clamp connections, brown contents, surface smooth, 2.5–5 μm diam. Terminal hyphae rounded to narrowed. Chlamydospores were not observed.

SPECIMEN EXAMINED: BRAZIL. Rio Grande do Sul: **Santa Maria**, Boca do Monte District, Estação Experimental de Silvicultura-FEPAGRO, 31 July 2009, *leg. M.A. Sulzbacher 198* (SMDB).

HABITAT: subhypogeous, under dead *Eucalyptus* leaves, ectomycorrhizal.

HOST SPECIES: *Eucalyptus grandis*.

KNOWN DISTRIBUTION: widespread in *Eucalyptus* plantations throughout the world (CORTEZ et al., 2008; LAGO; CASTRO, 2004). In South America, it is known from Argentina and Uruguay (HORAK, 1964, as *Hypogaea*; NOUHRA et al., 2008; SINGER, 1969; WRIGHT, 1980; WRIGHT; ALBERTÓ, 2006), Brazil (CORTEZ et al., 2008; GIACHINI et al., 2000), and Chile (LAZO, 1972).

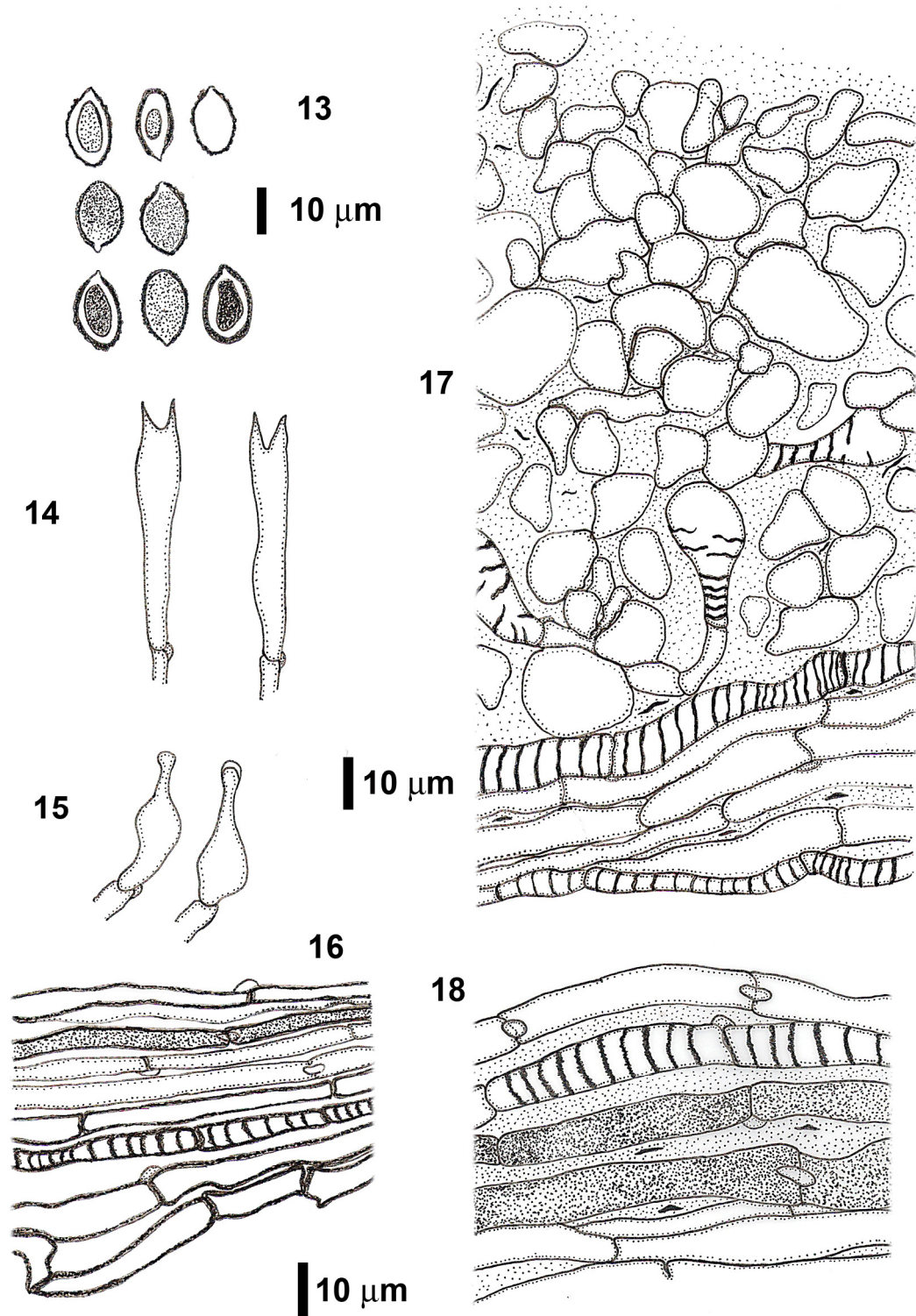


Figura 13 a 18 – *Setchelliogaster tenuipes*. 13. Basidiospores. 14. Basidia. 15. Cystidia. 16. Details of the subparallel stiptipellis surface. 17. Details of the peridiopellis. 18. Subparallel hymenophoral trama.

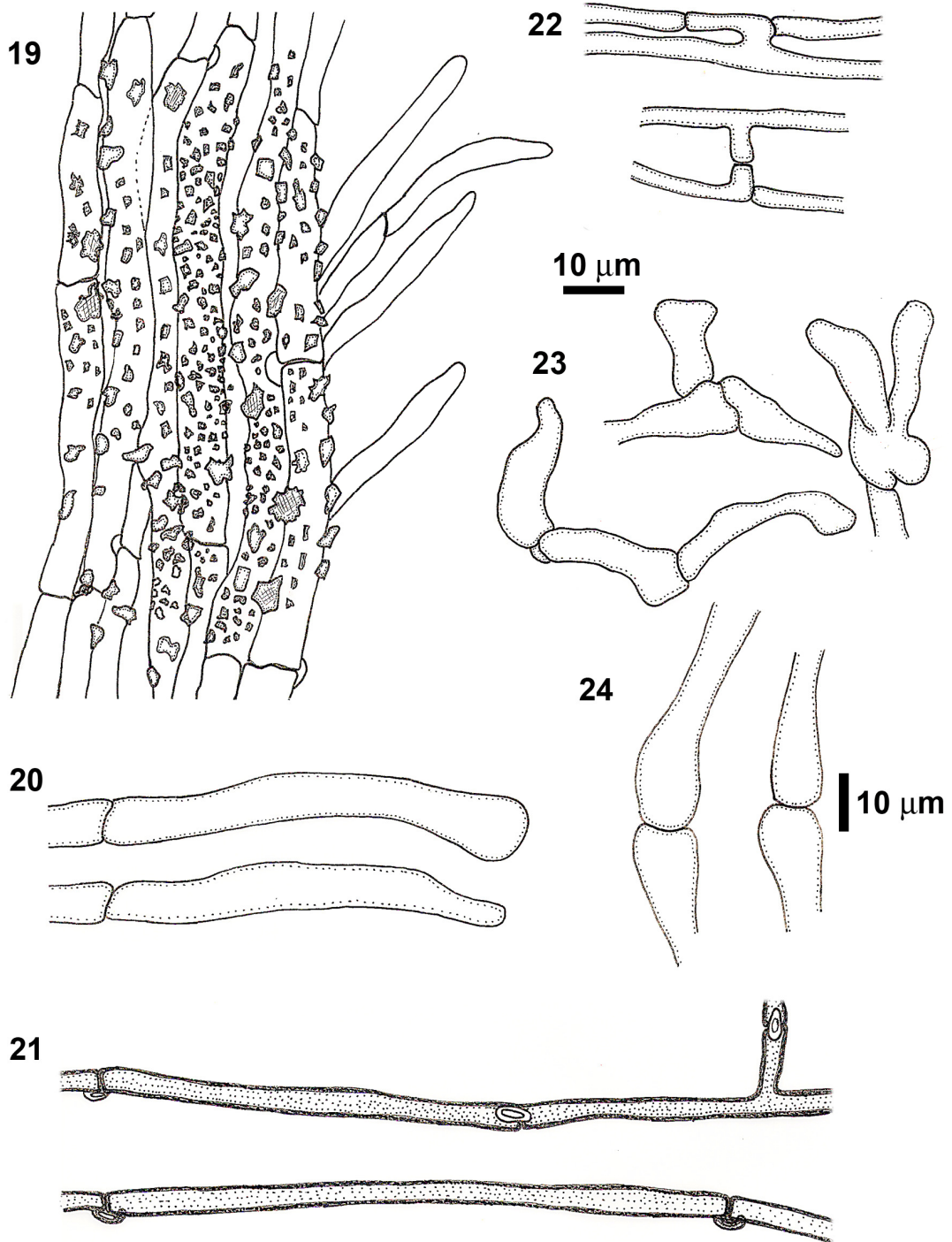


Figura 19 a 24 – Rhizomorphs of *Setchelliogaster tenuipes*. 19. Details of the external surface with encrusted granular crystals. 20. Terminal hyphae. 21. Thicker hyphae with simple septa, clamps and brown content. 22. Emanating hyphae. 23. Inflated hyphae. 24. Typical ampullate inflations at the hyphae.

REMARKS: The placement of *Setchelliogaster tenuipes* among the fungi is well discussed in Cortez et al. (2008). The genus *Setchelliogaster* comprises six known species: *Setchelliogaster aurantiacum* (Zeller) Singer & Smith, *S. australiensis* Beaton, Pegler & Young, *S. brunneus* (Horak) Singer, *S. fragile* (Zeller & Dodge) Horak, *S. rheophyllus* (Bertault & Malençon) Moreno and *S. tenuipes* (Setchell.) Pouzar (LAGO et al., 2001). Some of the main features of *S. tenuipes* are the reddish brown basidiomes, the presence of a well-developed stipe and lecythiform cystidia (CORTEZ et al., 2008; LAGO; CASTRO, 2004). According to Bougher; Castellano (1993), there is definitely an ectomycorrhizal relationship between *Descomyces* and *Setchelliogaster* and the family *Myrtaceae*, particularly with the genus *Eucalyptus*. These authors report that *Setchelliogaster tenuipes* often accompanies *Descomyces albus* as one of the few compatible ectomycorrhizal fungi occurring in great abundance in *Eucalyptus* plantations in Australia. This statement has been confirmed in the present study. The rhizomorphic structures are described both macro- and microscopically for the recorded species. As some studies suggest (AGERER 1999, 2002; CLÉMENÇON et al., 2007; MARINO et al., 2008) the rhizomorph anatomy can contribute significantly for understanding the phylogeny and systematics of the basidiomycetes, reason why we devoted special attention to the study of these structures. Clémentçon et al. (2007) report that different developmental and architectural rhizomorph types are distinguished by Agerer (1999). These depend on the presence and distribution of vessel-like hyphae, ampullate swellings at the septa, fibre hyphae, secretory hyphae and backward growing hyphae (CLÉMENÇON et al., 2007).

Order Hysterangiales

Family Hysterangiaceae E. Fisch.

Hysterangium affine Masee & Rodway in Masee, Bull. Misc. Inf. R. Bot. Gdn. Kew 1898: 127, 1898. FIG. 25-27, 37.

BASIDIOMES 7–12 mm diam., depressed globose to subglobose, with a distinct rhizomorphic base. PERIDIUM <1 mm thick, brownish orange (6C3) to light brown (6D6), smooth and glabrous. GLEBA loculate, gelatinized, greenish grey (27C2) to dull green (27D4), with irregular locules radially arranged on a dendroid columella.

RHIZOMORPHS white (6A1) thin, short and much numerous, forming a fasciculate base in the basidiomata. BASIDIOSPORES 10–12.6 × 4.5–5.5 μm, ellipsoid to suboblong, apex and base tapered, hyaline in KOH, smooth and slightly thickened wall, with a sterigmal attachment base, utricle absent. BASIDIA 22.5–26 × 4.5–6.7 μm, clavate, tetrasporic, hyaline. PERIDIUM about 100–180 μm thick, composed by a cutis of interwoven hyphae 2.5–5 μm diam., with walls brownish, slightly thickened and encrusted by numerous, small crystals, not readily separable from the gleba in the examined material. TRAMA formed by subparallel, smooth and thin-walled, hyaline hyphae, 2.5–7.5 μm diam.

SPECIMEN EXAMINED: BRAZIL. Rio Grande do Sul state. **Santa Maria**, Estação Experimental de Silvicultura, FEPAGRO, 15 May 2007, leg. *V.G. Cortez 091/07* (ICN). *Additional specimens examined*: ARGENTINA. Buenos Aires province. **Mar del Plata**, Laguna de los Padres, 02 Nov. 1962, leg. *I. Gamundí & R.T. Guerrero*, det. *R. Singer* (ICN 6030).

HABITAT: subhypogeous, under soil and fallen leaves of *Eucalyptus* sp., ectomycorrhizal.

HOST SPECIES: *Eucalyptus* sp.

KNOWN DISTRIBUTION: Australia (BEATON et al., 1985), North (ZELLER; DODGE, 1929) and South America. Widespread in areas where *Eucalyptus* spp. are cultivated.

REMARKS: *Hysterangium affine* is defined by the greenish color of the mature gleba, the basidiospores size and shape and the lack of utricle (BEATON et al., 1985). Although more frequently reported as ectomycorrhizal partner of *Eucalyptus* spp. (BEATON et al., 1985), association with *Quercus* in North America has been reported (ZELLER; DODGE, 1929). *Hysterangium eucalyptorum* Lloyd, from Ecuador, was considered a synonym of this species (ZELLER; DODGE, 1929; CUNNINGHAM, 1942; BEATON et al., 1985). *Hysterangium gardneri* E. Fisch., known from *Eucalyptus* plantations in Argentina and southern Brazil (GIACHINI et al., 2000),

differs in the smaller basidiospores ($8\text{--}10.5 \times 3.3\text{--}4 \mu\text{m}$) with wrinkled exosporium (NOUHRA et al., 2008). *Hysterangium affine* is a new record for Brazil.

Hysterangium inflatum Rodway, Pap. Proc. R. Soc. Tasm. 1917: 10 8, 1918.

FIG. 28-30, 38, 46.

BASIDIOMES 5–12 mm diam., subglobose to irregular, with a distinct rhizomorphic base. PERIDIUM 0.2 mm thick, greyish yellow (1B3), to dull red (8B4) when fresh, drying olive brown (4D8), covered by soil and litter particles, smooth. GLEBA loculate, olive (1F3), with elongate locules and a cartilaginous, dendroid, translucent columella. RHIZOMORPHS white (6A1), well developed at the base and sides of basidiomata, abundant within the substrate. BASIDIOSPORES $7.5\text{--}12.5 \times 3\text{--}4 \mu\text{m}$ (ornamentation excluded), ellipsoid with a truncate base, surface smooth but enclosed in an inflated wing-like utricle (which lacks in immature spores) $0.8\text{--}2.5 \mu\text{m}$, hyaline in KOH. BASIDIA $21\text{--}31 \times 3\text{--}9 \mu\text{m}$, clavate to cylindric, 4-6 spored, hyaline, basal clamp connections present. PERIDIUM 2-layered; external layer formed by narrow yellowish to brownish hyphae $1.6\text{--}3.3 \mu\text{m}$ in diam., wall slightly thickened, with clamp connections, crystals adhered to the surface ($1.5\text{--}2.5\text{--}4 \mu\text{m}$ diam.); internal layer composed by hyaline, smooth and thin-walled hyphae, interwoven to subregular broader than the external layer, $5\text{--}20 \mu\text{m}$ diam. TRAMA gelatinized in young and mature basidiomata, formed by hyaline, smooth and thin-walled, $0.8\text{--}6 \mu\text{m}$ diam., with clamp connections.

SPECIMEN EXAMINED: BRAZIL. Rio Grande do Sul state. **Santa Maria**, Distrito de Boca do Monte, Estação Experimental de Silvicultura - FEPAGRO, 26 May 2009, leg. *M.A. Sulzbacher 201* (SMDB), 31 July 2009, leg. *M.A. Sulzbacher 200* (SMDB).

HABITAT: subhypogeous, under soil and dead *Eucalyptus* leaves, ectomycorrhizal.

HOST SPECIES: *Eucalyptus* sp.

KNOWN DISTRIBUTION: Australia (BEATON et al., 1985), New Zealand (CASTELLANO; BEEVER, 1994), United States (ZELLER; DODGE, 1929), Spain

(LAGO; CASTRO, 2004), France, Ecuador (CASTELLANO; MUCHOVEJ, 1996), and Brazil. Possibly widespread in many *Eucalyptus* plantations worldwide.

REMARKS: *Hysterangium inflatum* is morphologically characterized by the ellipsoid and truncate basidiospores with an inflated wing-like utricle (CASTELLANO; MUCHOVEJ, 1996). Another important feature is that the external layer of the peridium has numerous and large calcium oxalate crystals adhered to the surface; the same type of crystals has been reported on the rhizomorphic hyphae (MALAJCZUK et al., 1987; CASTELLANO, 1999). Specimens of *H. inflatum* fruit within the upper humus layers and occasionally in the litter layer (CASTELLANO, 1999) and are reported as ectomycorrhizal partner of *Eucalyptus* spp., especially *E. globulus* (CASTELLANO; MUCHOVEJ, 1996). In Australia, the mycelium of *H. inflatum* occupied ca. 10% of the soil surface area in a native *E. diversicolor* F. Muell. forest, indicating its important role as a dominant ectomycorrhizal fungus (MALAJCZUK et al., 1987).

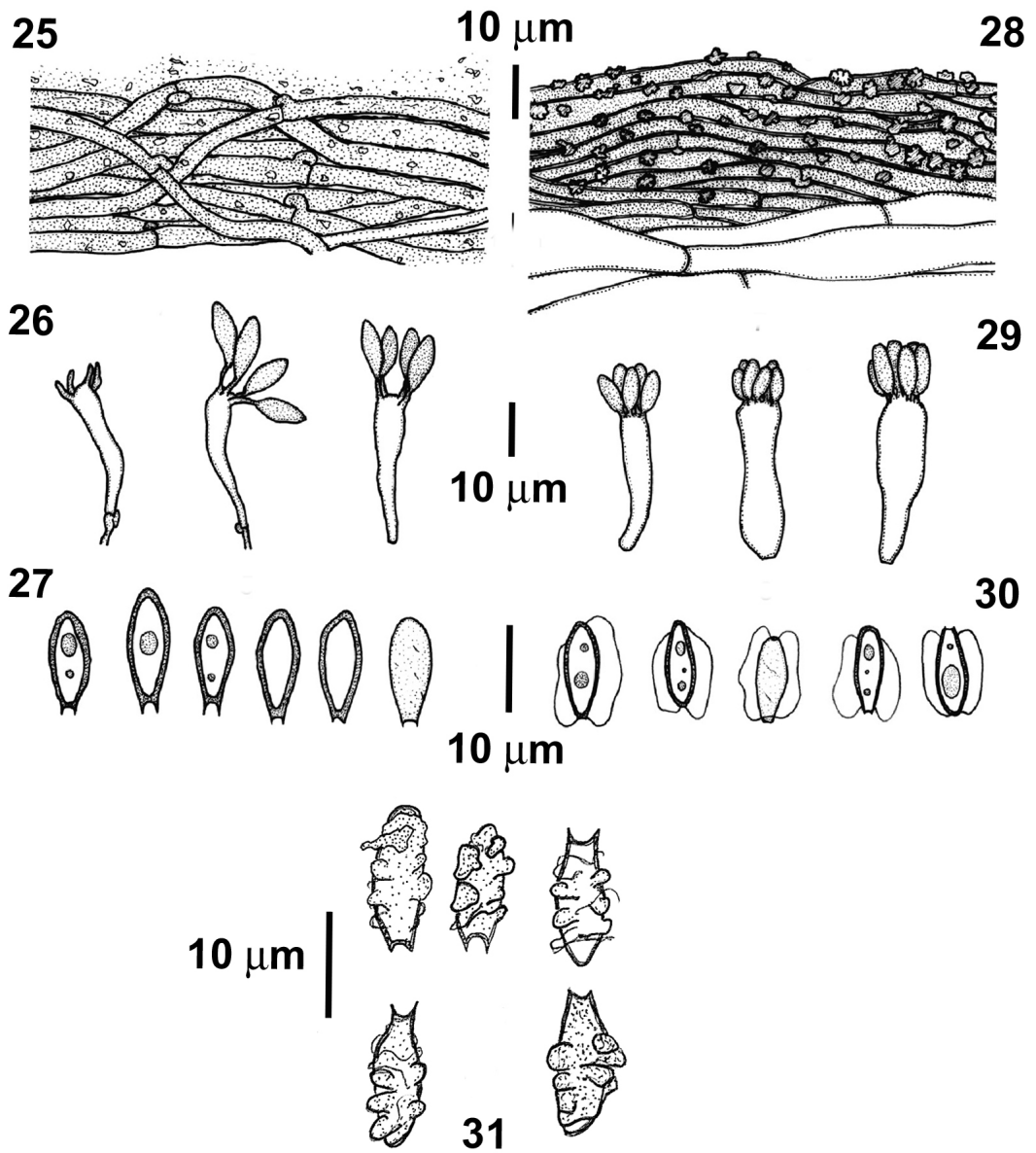


Figura 25 a 31 – *Hysterangium affine*. 25. Exoperidium. 26. Basidia. 27. Basidiospores. Fig. 28-30. *Hysterangium inflatum*. 28. Exoperidium. 29. Basidia. 30. Basidiospores. Fig. 31 – *Chondrogaster* sp., basidiospores.



Figura 32 a 38 – *Descomyces albus*. 32-33. *Setchelliogaster tenuipes*. 34-36. *Hysterangium affine*. 37. *Hysterangium inflatum*. 38.

Family Mesophelliaceae Jülich

Chondrogaster pachysporus Maire, Bull. Soc. Mycol. Fr. 40: 313, 1924. FIG. 45.

Description and discussion are found in Sulzbacher et al. (2010).

ADDITIONAL SPECIMEN EXAMINED: BRAZIL. Rio Grande do Sul: **Santa Maria**, Boca do Monte District, Estação Experimental de Silvicultura-FEPAGRO, 22 July 2010, leg. G. Coelho & M.A. Sulzbacher 224 (SMDB).

REMARKS: under SEM the basidiospore surface has a strongly irregular reticulate wall.

***Chondrogaster* sp.**

FIG. 31.

BASIDIOMES hypogeous, 4–8 mm in width, globose to subglobose, aggregated in clusters within a common mycelium. PERIDIUM <1 mm thick, reddish brown (9D7) when fresh, yellowish brown (5E8) when bruised, glabrous. GLEBA composed by non-gelatinized, locules, brownish grey (5F2). RHIZOMORPHS not observed. COLUMELLA absent. BASIDIA not seen. PERIDIUM 2-layered; external layer formed by narrow hyphae 1.5–4 μm in diam., thin-walled, with clamp connections; internal layer composed by hyaline, smooth and thin-walled hyphae, compactly interwoven, filamentous to subglobose 3–12 μm diam. TRAMA gelatinized, formed by hyaline, smooth and thin-walled, 4–7 μm diam., with clamp connections. BASIDIOSPORES 8–11 (-12) \times 3–4 μm (ornamentation excluded), ellipsoid with a truncate base; sterigmatal attachment persistent at maturity; in KOH, they are hyaline; wall irregularly reticulate, with a variable diameter (<1.5 μm).

SPECIMEN EXAMINED: BRAZIL. Rio Grande do Sul: **Dilermando de Aguiar**, 29°46' 23.1"S, 54°05'43.1"W, 09 november 2009, leg. M.A. Sulzbacher 205 (SMDB).

HABITAT: subhypogeous, under soil and dead *Eucalyptus* leaves, ectomycorrhizal.

HOST SPECIES: *Eucalyptus* sp.

REMARKS: This is probably a new species of *Chondrogaster*. For this species, the spores measurements are 8–11 (–12) × 3–4 μm (ornamentation excluded), while spores of *C. pachysporus* are 12.5–16.5 × 6–9 μm (ornamentation excluded) and *C. angustisporus* 10–15 × 4–5 μm (GIACHINI et al., 2000). *C. angustisporus* differs from *C. pachysporus* in the narrower size of the basidiospores, the lesser coarse ornamentation, and the presence of mostly bisporic basidia within the the glebal locules (LAGO; CASTRO, 2004). The species presented here has ellipsoid basidiospores, which are hyaline in KOH, and not pale yellowish brown as in *C. angustisporus* and *C. pachysporus*. New material and further studies, probably in light of molecular biology, are needed for a conclusive placement of this species.

**Key of the hypogeous fungi associated with *Eucalyptus*
in southern Brazil**

1. Spores rust brown or bright yellow in KOH, with exosporial or perisporial ornamentation 2
- 1'. Spores hyaline in KOH, smooth or irregularly reticulate5

2. Basidiomes secotioid; spores with a punctuate and thickened wall, apiculus prominent *Setchelliogaster tenuipes*.
- 2'. Basidiomes gastroid; walls of the spores little thick and ornamented 3

3. Peridiopellis epithelial *Descomyces albus*.
- 3'. Peridiopellis not epithelial, predominantly trichodermial hyphae; with scattered inflated cells 4

4. Spores 17–18.5 × 11.5–13.5 μm, ovoid to limoniform, walls thick and ornamented by sub-reticulate to verrucose perisporium *D. albellus*.
- 4'. Spores 14–16.5 × 9–11 μm, ellipsoid, walls with a reticulate to subreticulate exosporium *D. giachinii*.

5. Basidiomes generally isolate, subglobose; gleba firm and elastic, partially gelatinous at maturity and finally deliquescent, greenish grey or olive green
..... *Hysterangium* (6)

- 5'. Basidiomes aggregated in clusters within a common mycelium; the gleba lacks a distinct collumela; presence of a mycelial mass covering the whole basidiomata *Chondrogaster* (8)
6. Basidiospores without an utricle *H. affine*.
- 6'. Basidiospores with a distinct utricle 7
7. Rhizomorphs present only at the base of the basidiomata; basidiospores with a winged utricle *H. inflatum*.
- 7'. Rhizomorphs present at the base and sides of the basidiomata; basidiospores with an irregular, adpressed utricle..... *H. gardneri*.
8. Spores $12.5\text{--}16.5 \times 6\text{--}9 \mu\text{m}$ (ornamentation excluded), subfusoid, ellipsoid to broadly ellipsoid, smooth at first, becoming irregularly reticulate at maturity with a variable peridium diameter ($<3 \mu\text{m}$) *C. pachysporus*.
- 8'. Spores $11.5\text{--}13.5 \times 4\text{--}5 \mu\text{m}$ (ornamentation excluded), ellipsoid to ellipsoid-fusiform, smooth at first, then becoming pronouncedly roughened, with a reticulate perisporium *C. angustisporus*.

5.6 Discussion

The diversity and distribution of the records emphasize the need for additional efforts in order to better understand mycorrhizal symbionts in southern Brazil. This represents the first step towards a biotechnological application of these microorganisms in forestry programmes. Members of these fungi are considered of relevant interest on forestry because of their ectomycorrhizal relationships with several *Eucalyptus* spp. through out the world (MALAJCZUK et al., 1987; CASTELLANO, 1999). Unfortunately, the distribution and diversity of this group is poorly known in southern Brazil, where cultivation of *Eucalyptus* represents an important economic activity. Therefore, the potential development of ectomycorrhizal inocula using these organisms remains unexplored. Species of hypogeous fungi plays decisive roles in forest ecology, contributing directly to the structure and maintenance of the soil communities (CAIRNEY; CHAMBERS, 1999; CASTELLANO, 1999), and, for this reason, will be subject of future investigations. There is, however,

some difficulty to obtain these fungi in vitro. The slow growth in culture also limits potential tests for host compatibility in pure culture (CAIRNEY; CHAMBERS, 1999). On the other hand, preliminary results (M.A. Sulzbacher, unpubl. data) with specimens of *Descomyces* and *Setchelliogaster* isolated in vitro have shown a satisfactory development of the isolates in culture.

5.7 Acknowledgements

The authors thank Dr. Eduardo Nouhra and Prof. Reinhard Agerer for assistance with the studies. Andrea C. Rinaldi and Ornella Comandini for providing important literature. We are grateful to National Council for Scientific and Technological Development (CNPq - Brazil) and the Coordination for the Improvement of Higher Education Personnel (CAPES - Brazil) for their financial support.

5.8 References

- AGERER, R. Never change a functionally successful principle: the evolution of *Boletales* s. l. (Hymenomycetes, *Basidiomycota*) as seen from below-ground features. **Sendtnera**, n. 6, p. 5 – 91, 1999.
- AGERER, R. Rhizomorph structures confirm the relationship between *Lycoperdales* and *Agaricaceae* (Hymenomycetes, *Basidiomycota*). **Nova Hedwigia**, n. 75, p. 367 – 385, 2002.
- BEATON, G.; PEGLER, D.N.; YOUNG, T.W.K. Gasteroid Basidiomycotina of Victoria State, Australia: 3. *Cortinariales*. **Kew Bulletin**, n. 40, p. 167 – 204, 1985.
- BOUGHER, N.L.; CASTELLANO, M.A. Delimitation of *Hymenogaster sensu stricto* and four new segregated genera. **Mycologia**, n. 85, p. 273 – 293, 1993.
- BOUGHER, N.L. Status of the genera *Hymenangium* and *Descomyces*. **Mycotaxon**, n. 108, p. 313 – 318, 2009.
- CAIRNEY, J.W.G.; CHAMBERS, S.M. Ectomycorrhizal fungi: key genera in profile. Berlin: Springer, 1999.
- CASTELLANO, M. A.; BEEVER, R. E. Truffle-like *Basidiomycotina* of New Zealand: *Gallacea*, *Hysterangium*, *Phallobata*, and *Protuberata*. **New Zeal. J. Bot.**, n. 32, p. 305 – 328, 1994.

CASTELLANO, M. A.; MUCHOVEJ, J. J. Truffle-like fungi from South America: *Hysterangium* sensu lato. **Mycotaxon**, n. 57, p. 329 – 345, 1996.

CASTELLANO, M.A. *Hysterangium*. In: CAIRNEY, J.W.G.; CHAMBERS, S.M. (eds.) **Ectomycorrhizal fungi: key genera in profile**. Springer, Berlin, Germany, p.311-323, 1999.

CLARIDGE, A.W.; CORK, S.J.; TRAPPE, J.M. Diversity and habitat relationships of hypogeous fungi I. Study design, sampling techniques and general survey results. **Biodivers Conserv**, n. 9, p. p. 151 – 173, 2000.

CLÉMENÇON, H.; HOSAKA, K.; TAYLOR, A.F.S. Rhizomorph anatomy confirms the taxonomic position of *Sclerogaster* (*Phallomycetidae*, *Basidiomycota*). **Mycotaxon**, n. 100, p. 85 – 95, 2007.

CORTEZ, V.G.; *et al.* Two sequestrate cortinarioid fungi from Rio Grande do Sul, Brazil. **Hoehnea**, n. 35, p. 513 - 518, 2008a.

CUNNINGHAM, G. H. **The Gasteromycetes of Australia and New Zealand**. Dunedin, 1942.

GIACHINI, A.J.; *et al.* Ectomycorrhizal fungi in *Eucalyptus* and *Pinus* plantations in southern Brazil. **Mycologia**, n. 92, p.1166 – 1177, 2000.

HORAK E. *Hypogaea* gen. nov. aus dem Nothofagus-Wald der patagonischen Anden. **Sydowia**, n. 17, p. 297 – 301, 1964.

KORNERUP, A.; WANSCHER, J.H. **Methuen handbook of colour**. Eyre Methuen, London, UK., 1978.

LAGO, M.; CASTRO, M.L. Macrobasidiomicetos asociados a *Eucalyptus* en la Península Ibérica. **Fungi Non Delineati**, n. 27, p. 1 – 84, 2004.

LAGO, M.; BOUGHER, N.L.; CASTRO, M.L. Morphological variability and implication for definition of taxa in the *Descolea-Setchelliogaster-Descomyces* complex. **Mycotaxon**, n. 78, p. 37 – 57, 2001.

LAZO, W. Fungi from Chile I. Some gasteromycetes and *Agaricales*. **Mycologia**, n. 64, p. 786 – 798, 1972.

LIMA, W.P. **Impacto Ambiental do Eucalipto**. 2nd ed. São Paulo, Brazil: EDUSP, 1993.

MALAJCZUK, N., DELL, B.; BOUGHER, N. L. Ectomycorrhiza formation in *Eucalyptus* III. Superficial ectomycorrhizas initiated by *Hysterangium* and *Cortinarius* species. **New Phytol.**, n. 105, p.: 421 – 428, 1987.

MARINO, D.E.; *et al.* *Sistotrema* is a genus with ectomycorrhizal species – confirmation of what sequence studies already suggested. **Mycological Progress**, n. 7, p. 169 – 176, 2008.

MONTECCHI, A.; SARASINI, M. **Funghi ipogei d'Europa**. Fondazione Centro Studi Micologici dell'Associazione Micologica Bresadola, Trento. 2000.

NOUHRA, E.R.; *et al.* Occurrence of ectomycorrhizal, hypogeous fungi in plantations of exotic tree species in central Argentina. **Mycologia**, n. 100, p. 752 – 759, 2008.

RINALDI, A.C.; COMADINI, O.; KUYPER, T.W. Ectomycorrhizal fungal diversity: separating the wheat from the chaff. **Fungal Divers.**, n. 33, p. 1 – 45, 2008.

SINGER, R. Mycoflora australis. Beih. **Nova Hedwigia**, n. 29, p. 1 – 405, 1969.

SINGER, R.; ARAÚJO, I. Litter decomposition and ectomycorrhiza in Amazonian forests. **Acta Amazonica**, n. 9, p. 25 - 41, 1979.

SINGER, R.; ARAUJO, I.; IVORY, M.H. The ectotrophically mycorrhizal fungi of the neotropical lowlands, especially central Amazonia. Beih. **Nova Hedwigia**, n. 77, p. 1 – 352, 1983.

SULZBACHER, M.A; *et al.* *Chondrogaster pachysporus* in a *Eucalyptus* plantation in southern Brazil. **Mycotaxon**, n. 113, p. 377-384, 2010.

WRIGHT, J.E. El género *Setchelliogaster* en Buenos Aires (*Secotiaceae*, *Gasteromycetes*). **Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica**, n. 19, p. 237 – 241, 1980.

WRIGHT, J.E.; ALBERTÓ, E. **Guía de hongos de la región pampeana**. v. II. Hongos sin laminillas. L.O.L.A., Buenos Aires, 2006.

ZELLER, S. M.; DODGE, C. W. *Hysterangium* in North America. **Ann. Mo. Bot. Gdn.**, n. 16, p. 83 – 128, 1929.

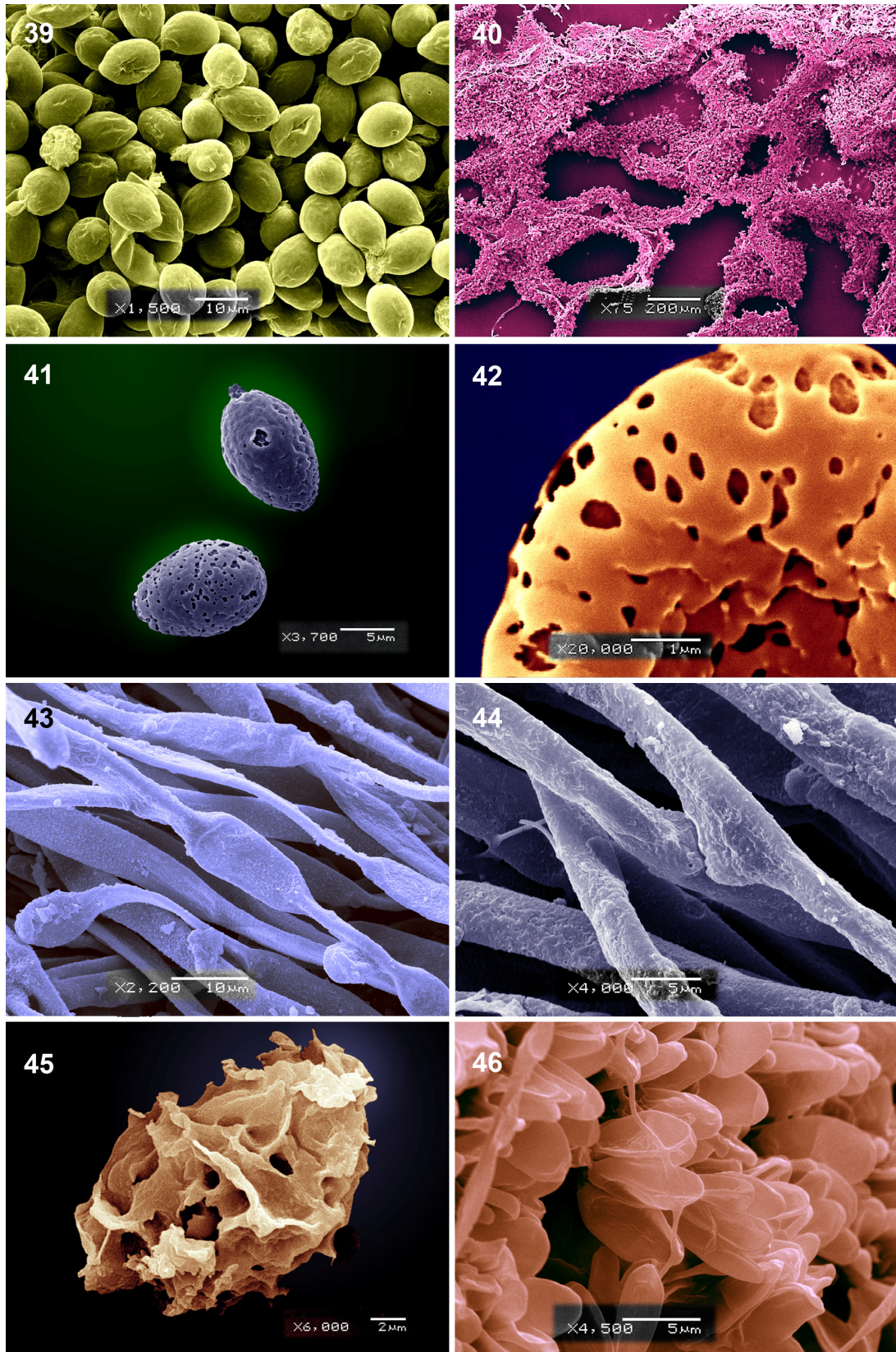


Figura 39 a 46 – SEM images. *Descomyces albus*. 39-40. 39. Basidiospores. 40. Gleba. *Setchelliogaster tenuipes*. 41-44. 41-42. Basidiospores. 43. Ampullate hyphae of the rhizomorphs. 44. Details of the clamped hyphae. 45. Basidiospores of *Chondrogaster pachysporus*. 46. Collapsed basidiospores of *Hysterangium inflatum*.

6 CAPÍTULO 5

DIVERSIDADE DE FUNGOS HIPÓGEOS ASSOCIADOS A *EUCALYPTUS* SPP. NO RIO GRANDE DO SUL USANDO SEQUÊNCIAS DE NUCLEOTÍDEOS DA REGIÃO ITS rDNA

6.1 Resumo

A presente pesquisa teve como foco estudar a diversidade de fungos ectomicorrízicos hipógeos (*Basidiomycetes*) coletados em solos de plantações de *Eucalyptus* spp. na região Central do Rio Grande do Sul, Brasil, por meio de características moleculares baseadas na variabilidade da região ITS do rDNA. O período de coleta dos fungos foi de maio de 2009 a julho de 2010. Um total de três espécies pertencentes a duas famílias foram identificadas, sendo elas: *Chondrogaster pachysporus* Maire, pertencente à família *Mesophelliaceae* Jülich, *Setchelliogaster tenuipes* (Setch.) Pouzar e *Descomyces albus* (Berk.) Bougher & Castellano, pertencentes à família *Cortinariaceae* R. Heim ex Pouzar. Foi realizada a amplificação da região do espaço interno transcrito (ITS) do rDNA, obtendo-se sequências variando de 650 à 850 pares de bases. As sequências obtidas foram comparadas com sequências depositadas no *GenBank* – NCBI (*National Center for Biotechnology Information*). O dendrograma filogenético foi construído utilizando-se o método *neighbor-joining* com o teste de *bootstrap* com 1000 replicatas. Observou-se similaridade entre as espécies de isolados com gêneros dos mesmos fungos que possuíam sequências ITS depositadas no *GenBank*. Quanto à diversidade, os isolados das espécies *Descomyces albus*, *Setchelliogaster tenuipes* e *Chondrogaster pachysporus* aproximaram-se filogeneticamente dos organismos do mesmo gênero cadastrados no banco de dados. Uma das espécies de *Chondrogaster* analisadas foi recuperada isoladamente nos dendrogramas obtidos, podendo tratar-se, portanto, de uma espécie inédita ainda não descrita. Todavia, são necessários estudos complementares com base no sequenciamento de outras regiões do genoma para afirmações mais conclusivas.

Palavras-chave: Brasil, ectomicorrizas, DNA ribossomal, Filogenia

6.2 Introdução

As técnicas de biologia molecular apresentam-se como importantes ferramentas de estudos na sistemática moderna (GOMES et al., 2002), as quais têm gerado profundas mudanças na classificação dos fungos de uma forma geral (HIBBETT, 2006; MORRIS et al., 2009). Como relatos da aplicação destas técnicas baseadas no sequenciamento do espaço interno transcrito (*internal transcribed spacer* – ITS) do rDNA de fungos, tem auxiliado grandemente na caracterização de espécies e na avaliação da variabilidade genética de muitos organismos fúngicos (HAUNG et al., 2005; MONCALVO et al., 2002; TEDERSOO et al., 2007, 2008). Entretanto, existe uma deficiência comprovada de dados de seqüenciamento do rDNA de *Agaricomycetes* tropicais nos bancos de DNA, comprometendo, assim, maior conhecimento sobre a taxonomia destes fungos.

Tedersoo (2009) elaborou uma ampla revisão sobre a diversidade, a distribuição e as linhas evolutivas de fungos ectomicorrízicos com base em estudos morfológicos e moleculares. O autor salientou a necessidade de implementar pesquisas com fungos ectomicorrízicos da América do Sul, permitindo a melhor compreensão de sua biogeografia, além de outros aspectos desses organismos. Relatou ainda que infelizmente, muitos dos estudos já realizados não utilizaram técnicas moleculares para a caracterização das espécies, e que atualmente novas ferramentas de biologia molecular e de bioinformática têm facilitado a construção de análises filogenéticas, e uma melhor compreensão das relações evolutivas desses organismos.

Assim, o objetivo deste trabalho foi contribuir para a diversidade de fungos ectomicorrízicos hipógeos (*Basidiomycetes*) coletados em solos de plantações de *Eucalyptus* spp. na Região Central do Rio Grande do Sul, Brasil, com base em características moleculares, comparando-os com espécies cadastradas no *GenBank*.

6.3 Material e métodos

A extração do DNA genômico foi realizada por meio da utilização do kit de extração DNeasy® Plant Mini Kit (Qiagen), seguindo-se as instruções de uso do

fabricante. Os tecidos fúngicos utilizados foram basidiomas herborizados, com aproximadamente 12 meses após a coleta.

Para o uso da técnica de reação em cadeia da polimerase (PCR) seguiu-se o protocolo utilizado por Lupatini et al. (2008) com modificações. A região do espaço interno transcrito (ITS) do rDNA foi amplificada utilizando-se os oligonucleotídeos iniciadores ITS 1 (5' TTC CGT AGG TGA ACC TGC GG 3') e ITS 4 (5' TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC 3') descritos por White et al. (1990). As reações de amplificação foram efetuadas por meio de uma desnaturação inicial a 94°C por 2 minutos, seguida por 35 ciclos consistindo de: desnaturação a 94°C por 1 minuto, anelamento a 55°C por 1 minuto, e extensão a 72°C por 1 minuto e 30 segundos. Por fim, realizou-se uma extensão final a 72°C por 10 minutos. A reação foi efetuada em um volume total de 25 µL, tendo como componentes: 10 ng de DNA molde, 25 pmoles de cada oligonucleotídeo iniciador (ITS 1 e ITS 4), 10 mM de Tris-HCl (pH 8,3), 50 mM do tampão de reação, 2 mM de MgCl₂, 2,5 µM de cada um dos dNTPs (dGTP, dCTP, dATP, dTTP) e 1 unidade de Taq DNA polimerase (Invitrogen®).

Após amplificação, foi realizada a eletroforese dos produtos de PCR em gel de agarose a 1,5%, em cuba horizontal contendo o gel submerso em tampão TBE 1X (90 mM Tris-borato, 2 mM EDTA, pH 8,0). Para a visualização das bandas de DNA, estas foram coradas por meio da adição de 10 mg mL⁻¹ de brometo de etídeo e visualizadas por meio da exposição do gel ao transluminador de luz ultravioleta. O registro fotográfico foi efetuado com o uso do aparato Cânon Snot S2IS.

Para a purificação dos produtos de PCR visando o envio ao sequenciamento, utilizou-se o protocolo baseado no uso de PEG 8000 a 13% proposto por Dunn; Blattner (1987). Adicionou-se um volume de solução de PEG 8000 (PEG a 13%, NaCl a 1,6M) homogeneizando-se cuidadosamente com o auxílio de micropipeta. Este material permaneceu nesta condição *overnight*. Adicionalmente, o mesmo foi centrifugado por 15 minutos a 13.000 rpm. Realizou-se o descarte da solução de PEG e a limpeza do material pela adição de 200 µL de etanol a 70% com inversão branda dos tubos, seguido de uma centrifugação por 10 minutos a 13.000 rpm. Este processo foi repetido por três vezes. Por fim, os *pellets* foram secos à temperatura ambiente com posterior eluição em 8 µL de água ultrapura, conforme propõe Sambrook et al. (1989).

As reações de sequenciamento utilizaram os oligonucleotídeos iniciadores ITS 1 e ITS 4, e foram realizadas no sequenciador Mega BACE 5000 (Amersham

Bioscience), seguindo-se o protocolo fornecido pelo fabricante. Para obter as sequências consenso, o material sequenciado foi analisado no programa STADEN (STADEN et al. 1992-2000), realizou-se então, o alinhamento por meio do algoritmo ClustalW. A análise filogenética foi efetuada com auxílio do programa MEGA 4 (TAMURA et al., 2006), utilizando-se para a construção do dendrograma o algoritmo *neighbour-joining*.

As sequências do *GenBank* utilizadas para as análises foram escolhidas com base nos conhecimentos existentes entre o parentesco dos grupos, utilizando-se o algoritmo *megablast*, disponível na plataforma BLAST do NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>).

6.4 Resultados e discussão

Por meio da amplificação da região ITS do rDNA dos isolados *Chondrogaster pachysporus* S224 e de *Chondrogaster* sp. S205 foram obtidos fragmentos que variaram de 650 a 850 pares de bases (pb). Para os isolados das espécies *Descomyces albus* S199, S203 e S223, assim como para *Setchelliogaster tenuipes* (S198) observou-se a formação de fragmentos de 650 pb (Figura 47). Um fato relevante observado foi a formação de banda com tamanho diferente para o isolado *Chondrogaster* sp. S205, condição esta discutida no dendrograma filogenético (Figura 49).

Todas as sequências obtidas da região ITS dos basidiomas estudados serão depositadas posteriormente no *Genbank*, pois estão sendo realizadas repetições para confirmação dos resultados. A análise da identidade com os organismos mais próximos encontrados neste banco de dados, juntamente com o número de acesso, encontram-se na Tabela 1. Observou-se que para todos os isolados provenientes deste trabalho, exceto para *Chondrogaster pachysporus* S224, encontrou-se fungos pertencentes ao mesmo gênero com alto índice de identidade, a qual variou entre 90 e 99%. É válido salientar que na Tabela1 utilizou-se como comparativo apenas o organismo mais próximo ao isolado entre todo o grupo de organismos existentes no *GenBank*.

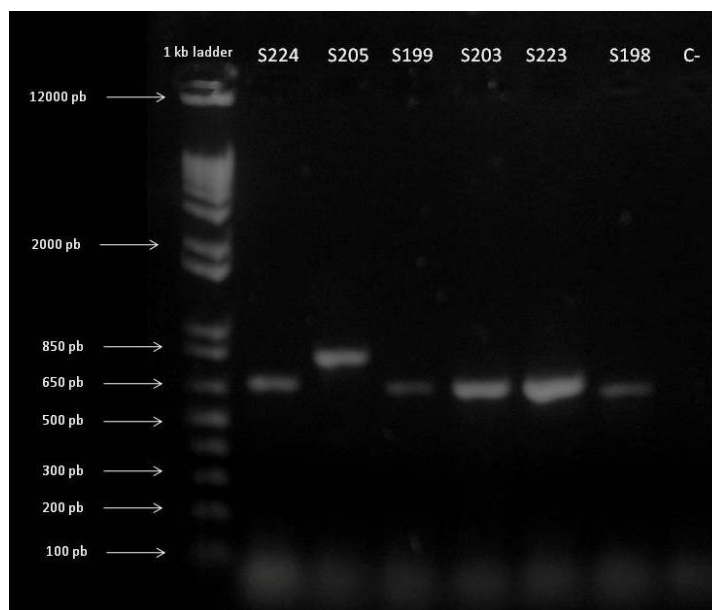


Figura 47 – Padrão de bandas obtidas pela amplificação da região ITS do rDNA dos isolados fúngicos: *Descomyces albus* (S199, S203, S223), *Setchelliogaster tenuipes* (S198), *Chondrogaster pachysporus* (S224) e *Chondrogaster* sp. (S205). Em C-, observa-se o controle negativo da reação de PCR. Na primeira coluna à esquerda, observa-se o *ladder* 1kb.

Tabela 1 – Comparação dos isolados ectomicorrízicos com espécies de maior similaridade presentes no GenBank

Isolados	Comparação entre sequências ITS			
	Espécie mais próxima	Identidade (%)	Número de acesso	Referências
<i>Descomyces albus</i> S223	<i>Descomyces</i> sp. H0736	99	DQ328135	Francis (2005)
<i>Descomyces albus</i> S199	<i>Descomyces</i> sp. H0736	99	DQ328135	Francis (2005)
<i>Descomyces albus</i> S203	<i>Descomyces</i> sp. H0736	99	DQ328135	Francis (2005)
<i>Setchelliogaster tenuipes</i> S198	<i>Setchelliogaster</i> sp. TRAPPE14175	94	DQ328184	Francis (2005)
<i>Chondrogaster pachysporus</i> S224	uncultured ectomycorrhizal fungus	90	AM412270	Tedersoo et al. (2007)
<i>Chondrogaster</i> sp. S205	<i>Chondrogaster angustisporus</i>	90	EF989122	Lupatini et al. (2008)

No dendrograma filogenético construído a fim de comparar os organismos de interesse foi observado a formação de diferentes *clusters*, englobando as espécies analisadas (Figura 48). Os isolados do gênero *Descomyces* agruparam-se aos demais isolados pertencentes ao mesmo gênero, formando um grupo monofilético. Separadamente, ocorreu a formação de mais de um *cluster* contendo os organismos pertencentes ao gênero *Setchelliogaster* (Figura 48).

Observou-se também a formação de um grupo monofilético contendo a espécie lamelada *Galerina nana* (Petri) Kühner, que embora pertença à mesa família das espécies de hipógeos de interesse neste estudo, não compõe o complexo formado entre os gêneros *Descolea* Singer, *Setchelliogaster* Pouzar e *Descomyces* Bougher & Castellano (LAGO, et al. 2001).

O gênero australiano *Timgrovea* Bougher & Castellano também se alinhou próximo a espécies de *Descomyces*. Este gênero, contudo, possui parentesco mais alinhado à *Boletaceae* do que à *Cortinariaceae* conforme salientado por Bougher; Castellano (1993).

Cabe aqui mencionar que muitos dos gêneros pertencentes à ordem *Cortinariales* e à família *Cortinariaceae*, onde estão inclusos também os gêneros *Descomyces* e *Setchelliogaster*, possuem ampla variação morfológica nos seus corpos de frutificação, podendo apresentar espécies com hábito secotióide (*Setchelliogaster*), hipógeo (*Descomyces*) e também aqueles verdadeiramente epígeos (*Galerina* Earle, *Gymnopilus* (Fr.) Murrill e *Inocybe* Fr.). São espécies amplamente distribuídas na América do Sul e para muitas destas tratamentos taxonômicos ainda são necessários. Estes e demais gêneros foram por muitos anos tratados em classificações tradicionais, como as de Pegler (1983) e Singer (1986), sem levar em consideração as análises moleculares. Discussões evolutivas envolvendo evidências morfológicas e moleculares têm incluído vários gêneros desta família, entre eles representantes gasteróides, hipógeos e sequestrados, tais como *Descomyces* e *Setchelliogaster* (PEINTNER et al. 2001, FRANCIS; BOUGHER 2002; CASTELLANO et al., 2004). Assim, a proposta de segregar a ordem *Cortinariales* Jülich de *Agaricales* Underw. foi aceita por alguns autores (MARTÍN; MORENO, 2001). Relações filogenéticas envolvendo a sistemática molecular deste grupo de fungos foram realizadas por Moncalvo et al. (2002) e mais tarde por Matheny et al. (2006). Apesar dos estudos já realizados, ainda são necessárias investigações não apenas para determinar as relações filogenéticas,

como também para elucidar os mecanismos moleculares de evolução das modificações morfológicas (homologias) apresentados por estes fungos (MATHENY et al., 2006; PEINTNER et al., 2001).

Dados moleculares suportam que *Setchelliogaster* e *Descomyces* são derivados de *Descolea*, o primeiro sendo polifilético e o segundo monofilético (PEINTNER et al., 2001).

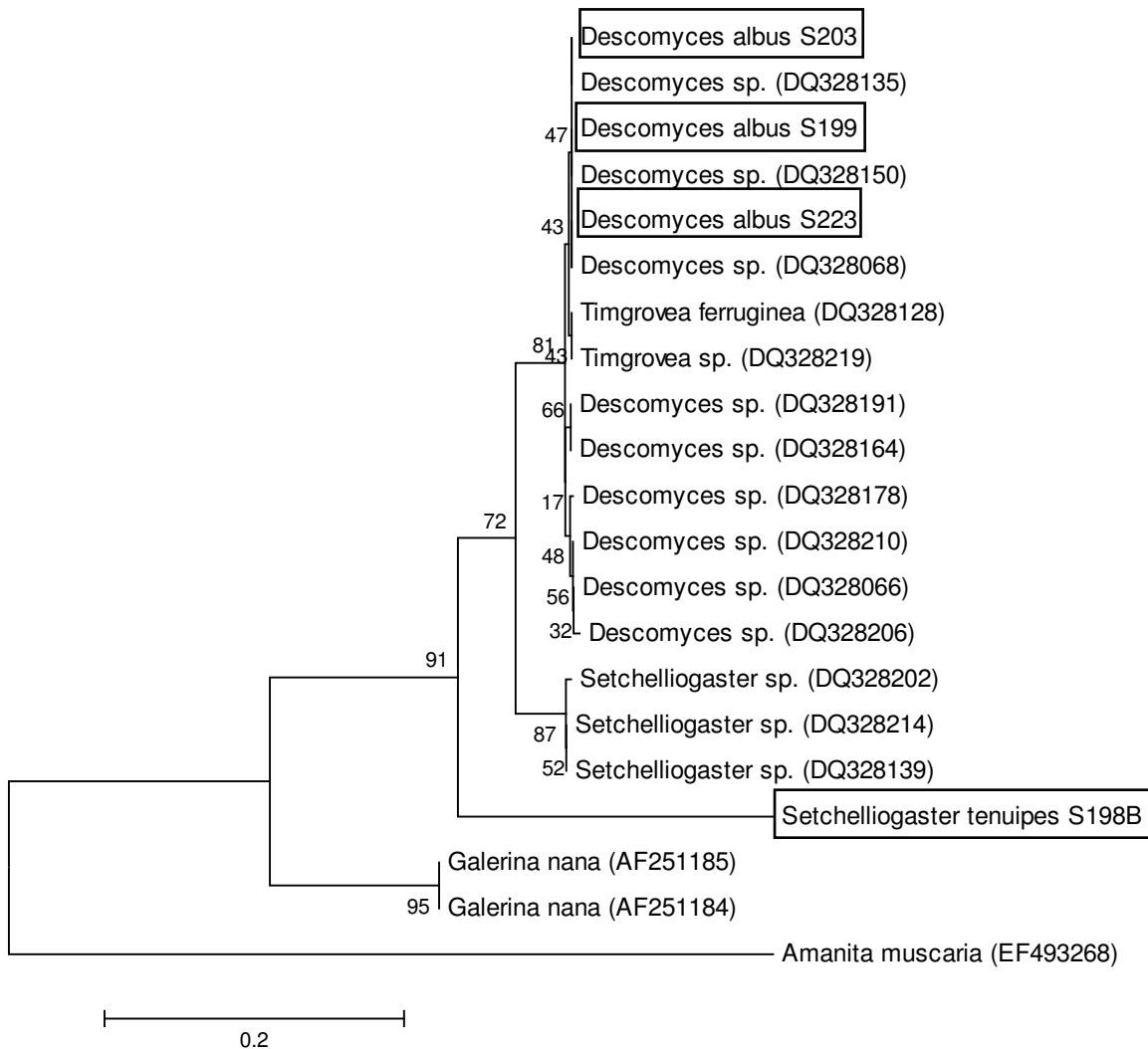


Figura 48 – Dendrograma filogenético baseado no algoritmo *neighbor-joining* da região ITS do rDNA entre os isolados *Descomyces albus* (isolados S223, S199 e S203) e *Setchelliogaster tenuipes* S198 e organismos obtidos a partir do banco de dados *GenBank*. O número acima ou abaixo das ramificações representa o valor de *bootstrap* com base em 1000 replicatas, () = número de acesso ao *GenBank*, *Amanita muscaria* foi inserido como *outgroup*.

O dendrograma apresentado na figura 49 compara espécies de *Chondrogaster* a organismos morfológicamente distintos, recentemente classificados na subclasse *Phallomycetidae*. Dentre eles analisou-se espécies de *Geastrum* Pers., *Ramaria* (Fries) Bonorden, *Hysterangium* Vittad. e *Gloeocantharellus* Singer – (HOSAKA et al., 2006, 2008), relação esta, suportada também por Lupatini et al. (2008). Adicionalmente, pode-se inferir a presecção de um ancestral comum às espécies *Chondrogaster pachysporum* S224, a ectomicorriza não cultivada presente no dendrograma e à espécie *Chondrogaster angustisporus*.

O isolado *Chondrogaster* sp. S205 agrupou-se as demais espécies do gênero, possibilitando inferências sobre a potencialidade de tratar-se de uma espécie já conhecida. Contudo, para tal confirmação, faz-se necessário o sequenciamento de regiões mais conservadas do genoma como, por exemplo, o gene 18S ou 28S do rDNA. Adicionalmente, é válido salientar que poucos registros são encontrados no *GenBank* acerca da caracterização molecular do gênero *Chondrogaster* utilizando a região ITS, o que dificultou as comparações.

Em ambos os dendrogramas (Figura 48 e 49) pode-se observar a relação filogenética de gêneros encontrados no Brasil com gêneros de origem Australiana, comprovando o que já foi anteriormente citado por Giachini et al (2000). Estes gêneros, nativos da Austrália, foram introduzidos no país pelas raízes das mudas de eucalipto e hoje encontram-se dispersos nos solos contendo espécies daquela essência florestal. Estas raízes podem ter abrigado fungos ectomicorrízicos e o transporte das plantas pode ter facilitado a introdução destes nesses novos ecossistemas (VELLINGA et al., 2009).

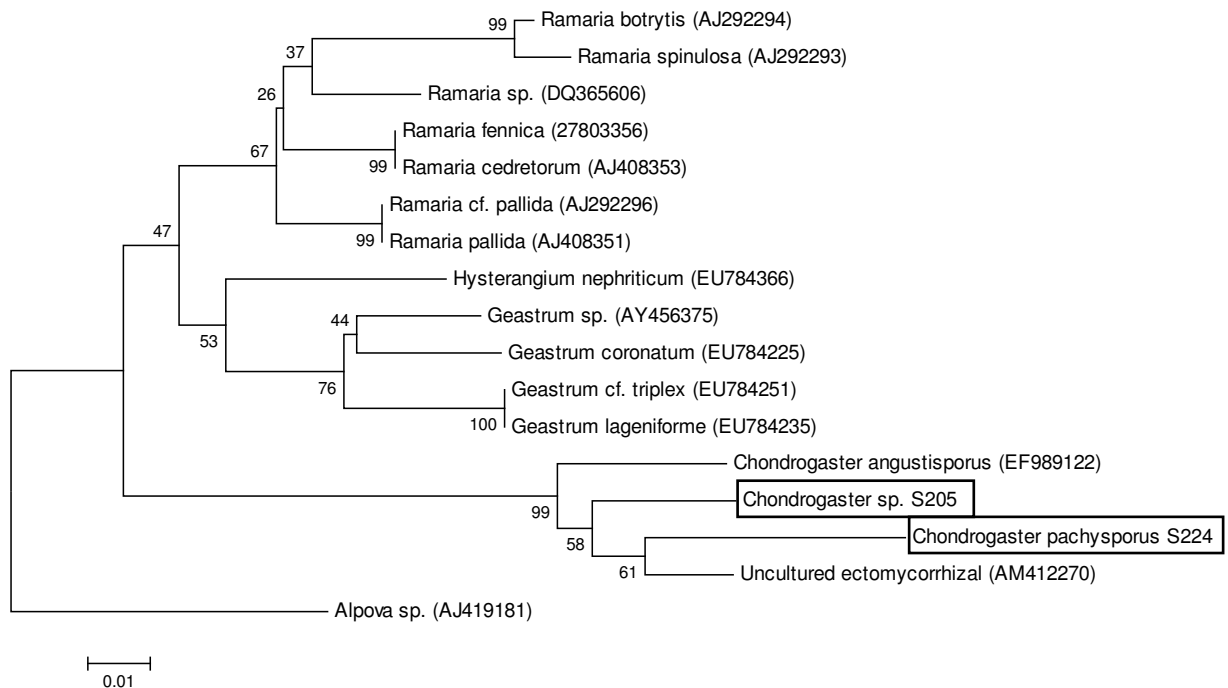


Figura 49 – Dendrograma filogenético baseado no algoritmo *neighbor-joining* da região ITS do rDNA entre os isolados *Chondrogaster pachysporus* S224 e *Chondrogaster* sp. S205 e os organismos obtidos no banco de dados *GenBank*, o gênero *Alpova* sp. é inserido como *outgroup*. O número acima ou abaixo das ramificações representa o valor de *bootstrap* com base em 1000 replicatas, () = número de acesso ao *GenBank*.

6.5 Conclusões

A análise da região ITS 1 e ITS 4 do rDNA permitiu a elaboração de uma ideia preliminar do posicionamento evolutivo dos fungos ectomicorrízicos avaliados neste estudo.

Por meio da análise molecular pode-se inferir acerca de indícios sobre possíveis relações entre os gêneros e as espécies estudadas.

O uso de ferramentas moleculares possibilitou a comprovação dos dados morfológicos dos fungos avaliados no capítulo 4.

Estudos envolvendo este tipo de ferramenta são necessários para melhor compreender as relações entre os fungos ectomicorrízicos e também poder inferir quanto as associações com plantas ectotróficas, como o eucalipto, por exemplo.

6.6 Referências bibliográficas

- ALTSCHUL, S.F. *et al.* Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein data base search programs. **Nucleic Acids Research**, Bethesda, n. 73, p. 3389 – 3402, 1997.
- BOUGHER, N.L.; CASTELLANO, M.A. Delimitation of *Hymenogaster sensu stricto* and four new segregated genera. **Mycologia**, n. 85, p. 273 – 293, 1993.
- CASTELLANO, M.A.; TRAPPE, J.M.; LUOMA, D.L. Sequestrate fungi. Pp. 197–213. In: Foster MS, Mueller GM, Bills GF (eds.) Biodiversity of Fungi: inventory and monitoring methods. Burlington (USA): Academic Press., 2004.
- DUNN, I.S.; BLATTNER, F.R. Charon-36 to charon-40 multi enzyme, high-capacity, recombination deficient replacemet vectors with polylinkers and polystuffers. **Nucleic Acids Research**, n. 15, p. 2677-2698, 1987.
- FRANCIS, A.A.; BOUGHER, N.L. Historical and current perspectives in the systematics of Australian cortinarioid sequestrate (truffle-like) fungi. **Australasian Mycologist**, n. 21, p. 81 – 93, 2002.
- GIACHINI, A.J. *et al.* Ectomycorrhizal fungi in *Eucalyptus* and *Pinus* plantations in southern Brazil. **Mycologia**, n. 92, p. 1166 – 1177, 2000.
- GOMES, E.A. *et al.* Polymorphism in the internal transcribed spacer (ITS) of the ribosomal DNA of 26 isolates of ectomycorrhizal fungi. **Genetics and molecular biology**, n. 25, p. 477 – 483, 2002.
- HALL, T. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. **Nucleic Acids Symposium Series**, Oxford, n. 41, p. 95 - 98, 1999.
- HAUNG, I. *et al.* *Russulaceae* and *Thelephoraceae* form ectomycorrhizas with members of the *Nyctaginaceae* (*Caryophyllales*) in the tropical mountain rain forest of southern Ecuador. **New Phytologist**, n. 165, p. 923 – 936, 2005.
- HIBBETT, D.S. A phylogenetic overview of the *Agaricomycotina*. **Mycologia**, n. 98, p. 917 – 925, 2006.
- HOSAKA, K.; *et al.* Molecular phylogenetics of the gomphoid-phalloid fungi with an establishment of the new subclass *Phallomycetidae* and two new orders. **Mycologia**, n. 98, p. 949 – 959, 2006.
- HOSAKA, K.; CASTELLANO, M.A.; SPATAFORA, J.W. Biogeography of *Hysterangiales* (*Phallomycetidae*, *Basidiomycota*). **Mycological Research**, n. 112, p. 448 – 462, 2008.
- LAGO, M.; BOUGHER, N.L.; CASTRO, M.L. Morphological variability and implication for definition of taxa in the *Descolea-Setchelliogaster-Descomyces* complex. **Mycotaxon**, n. 78, p. 37 – 57, 2001.

- LUPATINI, M.; et al. Mycorrhizal morphotyping and molecular characterization of *Chondrogaster angustisporus* Giachini, Castellano, Trappe & Oliveira, an ectomycorrhizal fungus from *Eucalyptus*. **Mycorrhiza**, n. 18, p. 437 – 442, 2008.
- MARTÍN, M.P.; MORENO, G. Molecular data confirm *Setchelliogaster tenuipes* and *S. rheophyllus* as *Cortinariales*. **Mycotaxon**, n. 78, p. 257 – 263, 2001.
- MATHENY, P.B. et al. Major clades of *Agaricales*: a multilocus phylogenetic overview. **Mycologia**, n. 98, p. 984 – 997, 2006.
- MONCALVO, J.M.; et al. One hundred and seventeen clades of euagarics. **Mol Phylogenet Evol.**, n. 23, p. 357 – 400, 2002.
- MORRIS, M. H.; et al. Influence of host species on ectomycorrhizal communities associated with two co-occurring oaks (*Quercus* spp.) in a tropical cloud forest. **FEMS Microbiology ecology**, n. 69, p. 274 - 287, 2009.
- PEINTNER, U.; et al. Multiple origins of sequestrate fungi related to *Cortinarius* (*Cortinariaceae*). **American Journal of Botany**, n. 88, p. 2168 – 2179, 2001.
- PEGLER, D.N. Agaric Flora of the Lesser Antilles. **Kew Bulletin Additional Series** 9, p. 1 – 668, 1983.
- SAMBROOK, J.; FRITSCH, E.F.; MANIATIS, T. **Molecular cloning** – laboratory manual, 2nd. Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York, 1989.
- SINGER R. **The Agaricales in modern taxonomy**. 4 ed. Koeltz, Koenigstein, 1986.
- STADEN R.; BEAL, K.F.; BONFIELD, J.K. **Staden Package**. Acesso on line em 10 de setembro de 2010. Disponível em: <http://staden.sourceforge.net/>.
- TAMURA, K.; KUMAR, S.; NEI, M. Mega: integrated software for molecular evolutionary genetics analysis and sequence alignment. **Briefings in Bioinformatics**, n. 5, p.150 - 163, 2006.
- TEDERSOO, L. et al. Ectomycorrhizal fungi of the *Seychelles*: diversity patterns and host shifts from the native *Vateriopsis seychellarum* (*Dipterocarpaceae*) and *Intsia bijuca* (*Caesalpiniaceae*) to the introduced *Eucalyptus robusta* (*Myrtaceae*), but not *Pinus caribea* (*Pinaceae*). **New Phytol**, n. 175, p. 321 – 333, 2007.
- TEDERSOO, L. et al. Strong host preference of ectomycorrhizal fungi in a Tasmanian wet sclerophyll forest as revealed by DNA barcoding and taxon-specific primers. **New Phytol**, n. 180, p. 479 – 490, 2008.
- TEDERSOO, L.; MAY, T.W.; SMITH, M.E. Ectomycorrhizal lifestyle in fungi: global diversity, distribution, and evolution of phylogenetic lineages. **Mycorrhiza**, n. 20, p. 217 – 263, 2009.
- VELLINGA, E.C.; WOLFE, B.E.; PRINGLE, A. Global patterns of ectomycorrhizal introductions. **New Phytologist**, n. 10, p. 1 - 14, 2009.
- WHITE, T.J. et al. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: Innis, M.A. et al. (Eds.) **PCR protocols**. A guide to methods and applications. Academic press, San Diego, 1990.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS FUTURAS

Com a execução deste trabalho, pode-se ampliar o conhecimento das espécies de fungos vulgarmente conhecidos como hipógeos. Este estudo não tem apenas um valor científico a nível estadual, mas certamente a nível nacional, devido aos resultados aqui obtidos terem possibilitado a adição de espécies à lista dos fungos hipógeos do Brasil.

Também foi possível realizar uma revisão bibliográfica detalhada das espécies de fungos ectomicorrízicos e potencialmente ectomicorrízicos ocorrentes no sul do Brasil (Rio Grande do Sul, Santa Catarina e Paraná). Esta lista totalizou 133 espécies distribuídas em 47 gêneros, todas acompanhadas com a sua distribuição, *habitat* e dados do substrato. Para muitas destas, ainda é necessário comprovar a sua relação ectomicorrízica com os simbiontes, assim como, expandir os estudos morfológicos e moleculares dos basidiomas.

O período de coleta dos fungos foi maio de 2009 a julho de 2010. Ao todo, 15 coletas foram realizadas em solos de plantações de *Eucalyptus* na região central do Rio Grande do Sul. Destas, cinco espécies foram identificadas, a saber: *Chondrogaster pachysporus* Maire, *Descomyces albus* (Berk.) Bougher & Castellano (nova citação para o Rio Grande do Sul), *Hysterangium affine* Masee, *Hysterangium inflatum* Rodway e *Setchelliogaster tenuipes* (Setch.) Pouzar.

As espécies *Hysterangium affine* e *Hysterangium inflatum* são citadas pela primeira vez para o Brasil. Já *Chondrogaster pachysporus* é citada pela primeira vez para a América do Sul. Um segundo taxon pertencente ao gênero *Chondrogaster* também foi obtido, porém, sem a precisa identificação da espécie a que pertence, podendo tratar-se de uma nova espécie para a ciência. Estes resultados indicam, portanto, que mais coletas devem ser realizadas com o intuito de propiciar a caracterização daquela espécie.

Ao nosso conhecimento, é a primeira vez que as rizomorfias de *Setchelliogaster tenuipes* são descritas macro e microscopicamente. Para tanto, observações em microscopia eletrônica de varredura são fornecidas, contribuindo para a melhor compreensão da espécie.

As matas de eucaliptos apresentam um *habitat* favorável ao desenvolvimento destes fungos, mesmo porque eles formam associações ectomicorrízicas com espécies daquela essência.

O número de espécies compondo esses ecossistemas deve seguramente aumentar quando mais coletas e estudos periódicos forem realizados, especialmente em regiões que não foram visitadas durante este trabalho.

Apesar das poucas espécies encontradas, pode-se observar que tratam-se de taxas considerados raros em nosso país, uma vez que ainda são poucas as informações encontradas sobre elas no Brasil.

Estudos moleculares também foram realizados por meio da análise da região ITS do rDNA fornecendo ideias iniciais quanto ao posicionamento evolutivo e a confirmação de algumas espécies identificadas morfológicamente.

A importância desse estudo não está apenas relacionada as questões taxonômicas, mas também a aspectos que permitam futuras investigações que envolvam aplicações biotecnológicas e silviculturais de interesse para o desenvolvimento do país, através da avaliação da compatibilidade entre espécies florestais e os fungos hipógeos.

Conforme discutido por Esposito; Azevedo (2010), estima-se que existam cerca de 1.5 milhões de espécies de fungos mundo afora, sendo que por volta de 90 mil delas já foram descritas. Muitas regiões tropicais ainda necessitam ser estudadas, sendo que as amostragens feitas nestas regiões têm sido geralmente restritas (ESPOSITO; AZEVEDO, 2010; RINALDI et al., 2008). Os autores ainda tratam da possível extinção em massa dos fungos, devido ao acentuado declínio de espécies observadas nos últimos anos. A explicação pode estar na poluição, no desmatamento e no uso intensivo de fertilizantes agrícolas nitrogenados, pois o nitrogênio e o enxofre do solo em altas concentrações poderiam impedir as associações micorrízicas (ESPOSITO; AZEVEDO, 2010).

Finalizando, a principal contribuição deste estudo é para o conhecimento dos fungos hipógeos Brasileiros e sua potencial aplicação nos mais diversos campos do conhecimento.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABRÃO, P.U.R.; GIANLUPPI, D.; AZOLIM, M.A.D. Levantamento semidetalhado dos solos da Estação Experimental de Silvicultura de Santa Maria. **Publ. Inst. Pesq. Rec. Nat. Renov.**, n.21, p. 1 – 75, 1988.

AGERER, R. Characterization of ectomycorrhiza. **Methods in Microbiology**, n. 23, p. 25 – 73, 1991.

AGERER, R. Never change a functionally successful principle: the evolution of *Boletales* s. l. (Hymenomycetes, *Basidiomycota*) as seen from below-ground features. **Sendtnera**, n. 6, p. 5 – 91, 1999.

AGERER, R. Rhizomorph structures confirm the relationship between *Lycoperdales* and *Agaricaceae* (Hymenomycetes, *Basidiomycota*). **Nova Hedwigia**, n. 75, p. 367 – 385, 2002.

AGERER, R. (ed). **Colour atlas of Ectomycorrhizae**. 1st-13th delivery. Einhorn Verlag, Schwäbisch Gmünd, 1987 – 2006.

AGERER, R.; RAMBOLD, G. 2004 – 2010 [first posted on 2004-06-01; most recent update: 2009-01-26]. DEEMY – An Information System for Characterization and Determination of Ectomycorrhizae. www.deemy.de – München, Germany.

ALEXOPOULOS, C.J.; MIMS, C.W.; BLACKWELL, M. **Introductory Mycology**. 4 ed. New York: John Wiley & Sons, 1995.

ALTSCHUL, S.F. *et al.* Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein data base search programs. **Nucleic Acids Research**, Bethesda, n. 73, p. 3389 – 3402, 1997.

ARORA, D. **Mushrooms demystified**. 2nd ed. Ten Speed, Berkeley, 1986.

BAS, C.; MEIJER, A.A.R. de. *Amanita grallipes*, a new species in *Amanita* subsection *Vittadiniae* from southern Brazil. **Persoonia**, n. 15, p. 345 – 350, 1993.

BASEIA, I.G.; MILANEZ A.I. *Rhizopogon* (Gasteromycetes): hypogeous fungi in exotic forests from the State of São Paulo, Brazil. **Acta Bot. Brasil**, n. 16, p. 55 – 60, 2002.

BASEIA, I.G.; MILANEZ, A.I. First record of *Scleroderma polyrhizum* Pers. (Gasteromycetes) from Brazil. **Acta Bot. Brasil**, n. 14, p. 181 – 184, 2000.

BASEIA, I.G.; CORTEZ, V.G.; CALONGE, F.D. Rick species revision: *Mitremyces zanchianus* versus *Calostoma zanchianum*. **Mycotaxon**, n. 95, p. 113 – 116, 2006.

BASEIA, I.G.; *et al.* O gênero *Calostoma* (*Boletales*, *Agaricomycetidae*) em áreas de cerrado e semi-árido no Brasil. **Acta Botanica Brasilia**, n. 21, p. 277 – 280, 2007.

BEATON, G.; PEGLER, D.N.; YOUNG, T.W.K. Gasteroid Basidiomycotina of Victoria State, Australia: 3. *Cortinariales*. **Kew Bulletin**, n. 40, p. 167 – 204, 1985.

BECERRA, A. *et al.* Ectomycorrhizae between *Alnus acuminata* H. B. K. and *Naucoria escharoides* (Fr.: Fr.) Kummer from Argentina. **Mycorrhiza**, n. 12, p. 61 – 66, 2002.

BECERRA, A. *et al.* Ectomycorrhizas of *Cortinarius helodes* and *Gyrodon monticola* with *Alnus acuminata* from Argentina. **Mycorrhiza**, n. 15, p. 7 – 15, 2005.

BINDER, M.; HIBBETT, D.S. Higher level phylogenetic relationships of *Homobasidiomycetes* (mushroom-forming fungi) inferred from four rDNA regions. **Mol Phylogenet Evol**, n. 22, p. 76 – 90, 2002.

BINDER, M.; HIBBETT, D.S. Molecular systematics and biological diversification of *Boletales*. **Mycologia**, n. 98, p. 971 – 981, 2006.

BOUGHER, N.L.; CASTELLANO, M.A. Delimitation of *Hymenogaster sensu stricto* and four new segregated genera. **Mycologia**, n. 85, p. 273 – 293, 1993.

BOUGHER, N. L.; LEBEL, T. Sequestrate (truffle-like) fungi of Australia and New Zealand. **Australian Systematic Botany**, n. 14, p. 439-484, 2001.

BOUGHER, N.L. Status of the genera *Hymenangium* and *Descomyces*. **Mycotaxon**, n. 108, p. 313 – 318, 2009.

BRUNDRETT, M. *et al.* **Working with mycorrhizas in forestry and agriculture**. Canberra, ACIAR, Monograph, 1996.

BRUNDRETT, M. C. Mycorrhizal associations and other means of nutrition of vascular plants: understanding global diversity of host plants by resolving conflicting information and developing reliable means of diagnosis. **Plant Soil**, n. 320, p. 37 – 77, 2009.

BUYCK, B.; THOEN, D.; WATLING, R. Ectomycorrhizal fungi in the Congo-Guinea region. *Proceedings of the Royal Society of Edinburgh*, n. 104B, p. 313 – 333, 1996.

BUYCK, B.; MEIJER, A. de. *Russula obtusopunctata*, a new synonym for *Lactarius venezuelanus*. **Mycotaxon**, n. 73, p. 267 – 273, 1999.

CAIRNEY, J.W.G.; CHAMBERS, S.M. **Ectomycorrhizal fungi: key genera in profile**. Berlin: Springer, 1999.

CALONGE, F.D.; VIDAL, J.M. Contribución al catálogo de los hongos hipogeos de Portugal. **Bol. Soc. Micol. Madrid**, n. 25, p. 251 – 264, 2000.

CARNEIRO, M.A.C.; *et al.* Micorriza arbuscular em espécies arbóreas e arbustivas nativas de ocorrência no Sudeste do Brasil. **Cerne**, n.1, p. 129 – 145, 1998.

CASTELLANO, M.A.; *et al.* **Key to spores of the genera of hypogeous fungi of north temperate forests with special reference to animal mycophagy**. Eureka (USA): Mad River, 1989.

CASTELLANO, M. A.; BEEVER, R. E. Truffle-like *Basidiomycotina* of New Zealand: *Gallacea*, *Hysterangium*, *Phallobata*, and *Protuberata*. **New Zeal. J. Bot.**, n. 32, p. 305 – 328, 1994.

CASTELLANO, M. A.; MUCHOVEJ, J. J. Truffle-like fungi from South America: *Hysterangium* sensu lato. **Mycotaxon**, n. 57, p. 329 – 345, 1996.

CASTELLANO, M.A. *Hysterangium*. In: CAIRNEY, J.W.G.; CHAMBERS, S.M. (eds.) **Ectomycorrhizal fungi: key genera in profile**. Springer, Berlin, Germany, p.311-323, 1999.

CASTELLANO, M.A.; TRAPPE, J.M.; LUOMA, D.L. Sequesterate fungi. Pp. 197–213. In: Foster MS, Mueller GM, Bills GF (eds.) *Biodiversity of Fungi: inventory and monitoring methods*. Burlington (USA): Academic Press., 2004.

CHEN, D.M.; et al. Identification of genes for lignin peroxidases and manganese peroxidases in ectomycorrhizal fungi. **New Phytologist**, n. 152, p. 151 – 158, 2001.

CLARIDGE, A.W.; CORK, S.J.; TRAPPE, J.M. Diversity and habitat relationships of hypogeous fungi I. Study design, sampling techniques and general survey results. **Biodivers Conserv**, n. 9, p. p. 151 – 173, 2000.

CLARIDGE, A.W. Ecological role of hypogeous ectomycorrhizal fungi in Australian forests and woodlands. **Plant and Soil**, n. 244, p. 291 – 305, 2002.

CLÉMENÇON, H.; HOSAKA, K.; TAYLOR, A.F.S. Rhizomorph anatomy confirms the taxonomic position of *Sclerogaster* (*Phallomycetidae*, *Basidiomycota*). **Mycotaxon**, n. 100, p. 85 – 95, 2007.

CORTEZ, V.G.; COELHO, G. Additions to the mycobiota (Agaricales, Basidiomycetes) of Rio Grande do Sul, Brazil. **Iheringia**, n. 60, p. 69 – 75, 2005.

CORTEZ, V.G. *et al.* Two sequestrate cortinarioid fungi from Rio Grande do Sul State, Brazil. **Hoehnea**, n. 35, p. 513 – 518, 2008a.

CORTEZ, V.G.; BASEIA I.G; SILVEIRA, R.M.B. Gasteromicetos (*Basidiomycota*) no Parque Estadual de Itapuã, Viamão, Rio Grande do Sul, Brasil. **Revista Brasileira de Biociências**, n. 6, p. 291 – 299, 2008b.

CORTEZ, V.G. Estudo sobre Fungos Gasteróides (*Basidiomycota*) no Rio Grande do Sul, Brasil. Tese (Doutorado em Botânica) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2009.

COSTA, M.D. *et al.* Ectomicorrizas: a face oculta das florestas (Aplicações biotecnológicas das ectomicorrizas na produção florestal). **Biotecnologia, Ciência e Desenvolvimento**, n. 29, p. 38 – 46, 2002.

CUNNINGHAM, G. H. **The Gasteromycetes of Australia and New Zealand.** Dunedin, 1942.

DUNN, I.S.; BLATTNER, F.R. Charon-36 to charon-40 multi enzyme, high-capacity, recombination deficient replacemet vectors with polylinkers and polystuffers. *Nucleic Acids Research*, n. 15, p. 2677-2698, 1987.

DUPONNOIS, R.; *et al.* Inoculation of *Acacia holosericea* with ectomycorrhizal fungi in a semiarid site in Senegal: growth response and influences on the mycorrhizal soil infectivity after 2 years plantation. *Forest Ecology and Management*, n. 207, p. 351 – 362, 2005.

ESPOSITO, E.; AZEVEDO, J.L. (Coords.). **Fungos: Biologia, Bioquímica e Biotecnologia**. Caxias do Sul, Editora da Universidade de Caxias do Sul, 2010.

FIASCHI, P.; PIRANI, J.R. Review of plant biogeographic studies in Brazil. *Journal of Systematics and Evolution*, n. 47, p. 477 – 496, 2009.

FIDALGO, O. Rick, o Pai da Micologia Brasileira. **Rickia**, n. 1, p. 3 – 11, 1962.

FORZZA, R.C. *et al.* Introdução. **Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Rio de Janeiro: Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2010.

FOUNOUNE, H.; DUPONNOIS, R.; BÂ, A.M. Ectomycorrhization of *Acacia mangium* Willd. and *Acacia holosericea* A. Cunn. ex G. Don in Senegal. Impact on plant growth, populations of indigenous symbiotic microorganisms and plant parasitic nematodes. **Journal of Arid Environment**, n. 50, p. 325 – 332, 2002.

FRANCIS, A.A.; BOUGHER, N.L. Historical and current perspectives in the systematics of Australian cortinarioid sequestrate (truffle-like) fungi. **Australasian Mycologist**, n. 21, p. 81 – 93, 2002.

FRANCIS, A.A.; BOUGHER, N.L. Cortinarioid sequestrate (truffle-like) fungi of Western Australia. **Australasian Mycologist**, n. 23, p. 1 – 26, 2004.

GARRIDO, N. *Agaricales* s.l. und ihre Mykorrhizen in den *Nothofagus*-wäldern Mittelchiles. *Bibliotheca Mycologica*, n. 120, p. 1 – 529, 1988.

GIACHINI, A.J. *et al.* Ectomycorrhizal fungi in *Eucalyptus* and *Pinus* plantations in southern Brazil. **Mycologia**, n. 92, p. 1166 – 1177, 2000.

GIACHINI, A.J.; SOUZA, L.A.B.; OLIVEIRA, V.L. Species richness and seasonal abundance of ectomycorrhizal fungi in plantations of *Eucalyptus dunnii* and *Pinus taeda* in southern Brazil. **Mycorrhiza**, n. 14, p. 375 – 381, 2004.

GOMES, E.A. *et al.* Polymorphism in the internal transcribed spacer (ITS) of the ribosomal DNA of 26 isolates of ectomycorrhizal fungi. **Genetics and molecular biology**, n. 25, p. 477 – 483, 2002.

GRUHN, C.M.; GRUHN, A.V.; MILLER, Jr.O.K. *Boletinelus merulioides* alters root morphology of *Pinus densiflora* without nycorrhizal formation. **Mycologia**, n. 84, p.: 528 – 533, 1992.

GUERRERO, R.T.; HOMRICH, M.H. **Fungos Macroscópicos Comuns no Rio Grande do Sul – Guia para Identificação**. 2^a ed. Porto Alegre: Ed. UFRGS, 1999.
GURGEL, F.E.; SILVA, B.D.B.; BASEIA, I.G. New records of *Scleroderma* from Northeastern Brazil. **Mycotaxon**, n. 105, p. 399 – 405, 2008.

GUZMÁN, G. Monografía del género *Scleroderma*. **Darwiniana**, n. 16, p. 233 - 407, 1970.

HALLING, R.E. Ectomycorrhizae: co-evolution, significance, and biogeography. **Ann. Missouri Bot. Gard.**, n. 88, p. 5 – 13, 2001.

HALLING, R.E; MUELLER, G.M. **Common Mushrooms of the Talamanca Mountains, Costa Rica**. Memoirs of The New York Botanical Garden, n. 90, 2005.

HALLING, R.E.; OSMUNDSON, T.W.; NEVES, M.A. Pacific boletes: Implication for biogeographic relationships. **Mycological Research**, n. 112, p. 437 – 447, 2008.

HALL, T. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. **Nucleic Acids Symposium Series**, Oxford, n. 41, p. 95 - 98, 1999.

HAUNG, I. *et al.* *Russulaceae* and *Thelephoraceae* form ectomycorrhizas with members of the *Nyctaginaceae* (*Caryophyllales*) in the tropical mountain rain forest of southern Ecuador. **New Phytologist**, n. 165, p. 923 – 936, 2005.

HAWKSWORTH, D.L. The magnitude of fungal diversity: the 1.5 million species estimate revisited. **Mycological Research**, n. 105, p. 1422 - 1434, 2001a.

HAWKSWORTH, D.L. Mushrooms: the extent of the unexplored potential. **Int. J. Med. Mushrooms** n. 3, p. 333 – 337, 2001b.

HENKEL, T.W.; Terborgh, J.; Vilgalys, R. Ectomycorrhizal fungi and their leguminous hosts in the Pakaraima mountains of Guyana. **Mycological Research**, n. 106, p. 515 – 531, 2002.

HIBBETT, D.S. A phylogenetic overview of the *Agaricomycotina*. **Mycologia**, n. 98, p. 917 – 925, 2006.

HIBBETT, D.S.; *et al.* Evolution of gilled mushrooms and puffballs inferred from ribosomal DNA sequences. **Proc Natl Acad Sci**, n. 94, p.12002 – 12006, 1997.

HORAK E. *Hypogaea* gen. nov. aus dem Nothofagus-Wald der patagonischen Anden. **Sydowia**, n. 17, p. 297 – 301, 1964.

HOSAKA, K.; *et al.* Molecular phylogenetics of the gomphoid-phalloid fungi with an establishment of the new subclass *Phallomycetidae* and two new orders. **Mycologia**, n. 98, p. 949 – 959, 2006.

HOSAKA, K.; CASTELLANO, M.A.; SPATAFORA, J.W. Biogeography of *Hysterangiales* (*Phallomycetidae*, *Basidiomycota*). **Mycological Research**, n. 112, p. 448 – 462, 2008.

JUMPPONEN, A. *et al.* Ecological relationships among hypogeous fungi and trees: inferences from association analysis integrated with habitat modeling. **Mycologia**, n. 96, p. 510-525, 2004.

KARSTEDT, F.; STÜRMER, S.L. Agaricales em áreas de Floresta Ombrófila Densa e plantações de Pinus no Estado de Santa Catarina, Brasil. **Acta bot. Bras**, n. 22, p. 1036 – 1043, 2008.

KIRK, P.M. *et al.* **Ainsworth and Bisby's Dictionary of the Fungi**. 9th ed. Cambridge, United Kingdom: CAB International University Press, 2001.

KORNERUP, A.; WANSCHER, J.E. **Methuen handbook of colour**. 3th ed. London Mwehuen, 1978, p. 252.

KWASNA, H.; BATEMAN, G.L.; WARD, E. Determining species diversity of microfungal communities in forest tree roots by pure-culture isolation and DNA sequencing. **Applied soil ecology**, n. 40, p. 44 – 56, 2008.

LAGO, M.; CASTRO, M.L. Macrobasidiomicetos asociados a *Eucalyptus* en la Península Ibérica. **Fungi Non Delineati**, n. 27, p. 1 – 84, 2004.

LAGO, M.; BOUGHER, N.L.; CASTRO, M.L. Morphological variability and implication for definition of taxa in the *Descolea-Setchelliogaster-Descomyces* complex. **Mycotaxon**, n. 78, p. 37 – 57, 2001.

LAZO, W. Fungi from Chile I. Some gasteromycetes and *Agaricales*. **Mycologia**, n. 64, p. 786 – 798, 1972.

LASERGENE. **User's guide**: a manual for the Lasergene System: biocomputing software for windows. Madson, 1994.

LEWINSOHN, T.M.; PRADO, P.I. 2005. How many species are there in Brazil? **Cons. Biol.**, n. 19, p. 619 – 624, 2005.

LIMA, W.P. **Impacto Ambiental do Eucalipto**. 2nd ed. São Paulo, Brazil: EDUSP, 1993.

LUPATINI, M.; et al. Mycorrhizal morphotyping and molecular characterization of *Chondrogaster angustisporus* Giachini, Castellano, Trappe & Oliveira, an ectomycorrhizal fungus from *Eucalyptus*. **Mycorrhiza**, n. 18, p. 437 – 442, 2008.

MALAJCZUK, N., DELL, B.; BOUGHER, N. L. Ectomycorrhiza formation in *Eucalyptus* III. Superficial ectomycorrhizas initiated by *Hysterangium* and *Cortinarius* species. **New Phytol.**, n. 105, p.: 421 – 428, 1987.

MARINO, D.E.; et al. *Sistotrema* is a genus with ectomycorrhizal species – confirmation of what sequence studies already suggested. **Mycological Progress**, n. 7, p. 169 – 176, 2008.

MARTÍN, M.P.; MORENO, G. Molecular data confirm *Setchelliogaster tenuipes* and *S. rheophyllus* as *Cortinariales*. **Mycotaxon**, n. 78, p. 257 – 263, 2001.

MATHENY, P.B. et al. Major clades of *Agaricales*: a multilocus phylogenetic overview. **Mycologia**, n. 98, p. 984 – 997, 2006.

MAUHS, J. Tipos da coleção Fungi Rickiani. **Pesquisas**, n. 50, p. 79 – 96, 2000.

MEIJER, A.A.R. de.; BAIRD, R.E. Macromycetes from the state of Paraná, Brazil. 3. Stipitate hydnums. **Arq. Biol. Tecnol.**, n. 35, p. 635 – 640, 1992.

MEIJER, A.A.R. de. Mycological work in the Brazilian state of Paraná. **Nova Hedwigia**, n. 72, p. 105 – 159, 2001.

MEIJER, A.A.R. de. Preliminary list of the macromycetes from the Brazilian state of Paraná. **Bol. Mus. Bot. Munic. Curitiba**, n. 68 p. 1 – 55, 2006.

MEIJER, A.A.R. de. **Notable Macrofungi from Brazil's Paraná Pine Forest**. Colombo, PR: Embrapa Floresta, 2008.

MENEGAT, R. **Environmental atlas of Porto Alegre**. Porto Alegre (Brazil): Ed. UFRGS, 1998.

MENOLLI, Jr.N.; CAPELARI, M.; BASEIA, I.G. *Amanita viscidolutea*, a new species from Brazil with a key to Central and South American species of *Amanita* section *Amanita*. **Mycologia**, n. 101, p. 395 – 400, 2009.

MOLINA, R.; MASSICOTE, H.; TRAPPE, J.M. Specificity phenomena in mycorrhizal symbiosis: community-ecological consequences and practical implications. In: ALLEN, M.F. (Ed.). **Mycorrhizal functioning – an integrative plant-fungal process**. New York: Chapman and Hall, p. 357 – 423, 1992.

MONCALVO, J.M.; *et al.* One hundred and seventeen clades of euagarics. **Mol Phylogenet Evol.**, n. 23, p. 357 – 400, 2002.

MONTECCHI, A.; SARASINI, M. **Funghi ipogei d'Europa**. Fondazione Centro Studi Micologici dell'Associazione Micologica Bresadola, Trento, 2000.

MOREIRA, F.M.S.; SIQUEIRA, J.O. **Microbiologia e bioquímica do solo**. Lavras: Editora UFLA, 2006.

MORENO-ARROYO, B.; GÓMEZ, J.; PULIDO, E. **Tesoros de nuestros montes. Trufas de Andalucía**. Córdoba (Spain): Consejería de Medio Ambiente, Junta de Andalucía, 2005.

MORRIS, M. H. *et al.* Influence of host species on ectomycorrhizal communities associated with two co-occurring oaks (*Quercus* spp.) in a tropical cloud forest. **FEMS Microbiology ecology**, n. 69, p. 274 - 287, 2009.

NATARAJAN K. *et al.* Diversity in ectomycorrhizal fungi of a dipterocarp forest in Western Ghats. **Curr. Sci.**, n. 88, p. 1890 – 1893, 2005.

NARA, K.; HOGETSU, T. Ectomycorrhizal fungi on established shrubs facilitate subsequent seedling establishment of successional plant species. **Ecology**, n. 85, p. 1700 – 1707, 2004.

NEVES, M.A.; CAPELARI, M. A preliminary checklist of *Boletales* from Brazil and notes on *Boletales* specimens at the Instituto de Botânica (SP) herbarium, São Paulo, SP, Brazil. **Sitientibus série ciências biológicas**, n. 7, p. 163 – 169, 2007.

NOUHRA, E.R.; *et al.* Morphological, molecular and ecological aspects of the South American hypogeous fungus *Alpova austroalnicola* sp. nov. **Mycologia**, n. 97, p. 598 – 604, 2005.

NOUHRA, *et al.* Ocurrence of ectomycorrhizal, hypogeous fungi in plantations of exotic tree species in central Argentina. **Mycologia**, n. 100, p. 752 – 759, 2008.

OLIVEIRA, V.L. *et al.* Specificité de champignons ectomycorhiziens vis-à-vis d' *Eucalyptus viminalis* Labill et *E. dunnii* Maiden. **Agronomie**, n. 143, 57 – 62, 1994.

ORIHARA, *et al.* Taxonomic reconsideration of a sequestrate fungus, *Octaviania columellifera*, with the proposal of a new genus, *Heliogaster*, and its phylogenetic relationships in the *Boletales*. **Mycologia**, n. 102, p. 108 – 121, 2010.

PEGLER, D.N. *et al.* **Fungi of Europe: investigation, recording and conservation.** London: Royal Botanical Gardens, 1993.

PEGLER, D.N. **The agarics of São Paulo, Brazil.** London: HMSO, Royal Botanic Gardens, Kew, 1997.

PEGLER, D.N. Agaric Flora of the Lesser Antilles. **Kew Bulletin Additional Series** 9, p. 1 – 668, 1983.

PEGLER, D.N. **Agaric flora of Sri Lanka.** London: HMSO, 1986.

PEINTNER, U.; *et al.* Multiple origins of sequestrate fungi related to *Cortinarius* (*Cortinariaceae*). **American Journal of Botany**, n. 88, p. 2168 – 2179, 2001.

PETERSON, R.L.; MASSICOTTE, H.B.; MELVILLE, L.H. **Mycorrhizas**: anatomy and cell biology. CABI: NRC Research Press, 2004.

PIROZYNSKI, K.A.; MALLOCH, W. The origin of land plants: a matter of mycotrophism. **BioSystems**, Care, n. 6, p. 153 – 164, 1975.

PIROZYNSKI, K.A. A interactions between fungi and plants through the ages. **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, n. 59, p. 1824 – 1827, 1981.

PUTZKE, J.; MARIA, L.; PEREIRA, A.B. Os fungos da família *Boletaceae* conhecidos do Rio Grande do Sul (*Fungi, Basidiomycota*). **Caderno de Pesquisa, Série Botânica**, n. 6, p. 75 – 100, 1994.

PUTZKE, J. Lista dos fungos Agaricales (*Hymenomyces, Basidiomycotina*) referidos para o Brasil. **Caderno de Pesquisa, Série Botânica**, n. 6, p. 1 – 189, 1994.

PUTZKE, J. O gênero *Laccaria* no Rio Grande do Sul. **Caderno de Pesquisa Série Botânica**, n. 11, p. 3 – 13, 1999.

PUTZKE, J. **Espécies de Tricholomataceae (Basidiomycota, Agaricales) no Rio Grande do Sul**. Tese (Doutorado em Botânica) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS. 2003.

RAITHELHUBER, J. Flora Mycologica Argentina: Hongos III. Stuttgart, add. ser. *Metrodiana*, p. 1 – 500, 1991.

RAJCHENBERG, M.; MEIJER., A.A.R. de. New and noteworthy polypores from Paraná and São Paulo States, Brazil. **Mycotaxon**, n. 38, 173 – 185, 1990.

RILLIG, M.C.; MUMMEY, D.L. Tansley review: mycorrhizas and soil structure. **New Phytol**, n. 171, p. 41-53, 2006.

RICK, J. Basidiomycetes eubasidii in Rio Grande do Sul - Brasilia. 5. *Agaricaceae*. **Iheringia, série Botânica**, n. 8, p. 296-450, 1961a.

RICK, J. Basidiomycetes eubasidii in Rio Grande do Sul. Brasilia. 6. **Iheringia, série Botânica**, n. 9, p. 451-480, 1961b.

RINALDI, A.C.; COMADINI, O.; KUYPER, T.W. Ectomycorrhizal fungal diversity: separating the wheat from the chaff. **Fungal Divers**, n. 33, p. 1 – 45, 2008.

SAMBROOK, J.; FRITSCH, E.F.; MANIATIS, T. **Molecular cloning** – laboratory manual, 2nd. Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York, 1989.

SANON, K.B.; et al. Morphological and molecular analyses in *Scleroderma* species associated with some Caesalpinoid legumes, *Dipterocarpaceae* and *Phyllanthaceae* trees in southern Burkina Faso. **Mycorrhiza**, n. 19, p. 571-584, 2009.

SCHUMACHER, M.V.; et al. Biomassa e nutrientes em um povoamento de *Hovenia dulcis* Thunb., plantado na Fepagro Florestas, Santa Maria, RS. **Ciência Florestal**, n. 18, p. 27 – 37, 2008.

SILVA, R.F.; ANTONIOLLI, Z.I.; ANDREAZZA, R. Efeito da Inoculação com fungos ectomicorrizicos na produção de mudas de *Eucalyptus grandis* W. Hill. ex Maiden em solo arenoso. **Ciência Florestal**, n. 13, p. 33 – 42, 2003.

SINGER, R.; DIGILIO, A.P.L. Prodrómo de la Flora Agaricina Argentina. **Lilloa**, n. 25, p. 5 – 461, 1951.

SINGER, R.; DIGILIO, A.P.L. Las boletáceas austro-sudamericanas. **Lilloa**, n. 28, p. 247 – 268, 1957.

SINGER, R.; DIGILIO, A.P.L. Las boletaceas de sudamerica tropical. **Lilloa**, n. 30, p. 141 – 164, 1960.

SINGER, R.; ARAUJO, I.; IVORY, M.H. The ectotrophically mycorrhizal fungi of the neotropical lowlands, especially central Amazonia. *Beih Nova Hedwigia*, n. 77, p. 1–352, 1983.

SINGER, R.; ARAUJO, I. Litter decomposition and ectomycorrhiza in Amazonian forests. **Acta Amazonica**, n. 9, p. 25 – 41, 1979.

SINGER, R. The *Boletineae* of Florida with notes on extralimital species. I. The *Strobilomycetaceae*. **Farlowia**, n. 2: p. 97 – 141, 1945.

SINGER, R. The *Agaricales* in modern taxonomy. **Lilloa**, n. 22, p. 1 – 832, 1949, [published in 1951].

SINGER, R. Type Studies on Basidiomycetes. IV. *Lilloa*, n. 23, p. 147 – 246, 1950.

SINGER, R. Type Studies on Basidiomycetes VI. **Lilloa**, n. 26, 57 – 159, 1953.

SINGER, R. Boletes and related groups in South America. **Nova Hedwigia**, n. 7, p. 93 – 132, 1964.

SINGER, R. Mycoflora australis. Beih. **Nova Hedwigia**, n. 29, p. 1 – 405, 1969.

SINGER R. **The *Agaricales* in modern taxonomy**. 4 ed. Koeltz, Koenigstein, 1986.

SMITH, S.E.; READ, D.J. **Mycorrhizal symbiosis**. London: Academic press, 2008.

SOBESTIANSKY, G. Contribution to a macromycete survey of the States of Rio Grande do Sul and Santa Catarina in Brazil. **Braz. Arch. Biol. Technol.**, n. 48, p. 437 – 457, 2005.

STADEN R.; K.F. BEAL; J.K. BONFIELD. **Staden Package**. Acesso *on line* em 10 de setembro de 2010. Disponível em: <http://staden.sourceforge.net/>.

STIVJE, T.; MEIJER, A.A.R. de. Macromycetes from the state of Paraná, Brazil. 4. The psychoactive species. **Arq. Biol. Technol.**, n. 36, p. 313 – 329, 1993.

STRECK, E.V.; *et al.* **Solos do Rio Grande do Sul**. 2nd ed. Porto Alegre (Brazil): EMATER, 2008.

SULZBACHER, M.A.; *et al.* Nota sobre os fungos *Agaricales* (*Basidiomycota*) da Estação Ecológica de Aracuri, Esmeralda, Rio Grande do Sul, Brasil. **Biociências**, n. 15, p. 143 – 153, 2007.

SULZBACHER, M.A.; *et al.* *Chondrogaster pachysporus* in a *Eucalyptus* plantations of southern Brazil. **Mycotaxon**, n. 113, p. 377-384, 2010.

SUVI, T. *et al.* Mycorrhizal symbionts of *Pisonia grandis* and *P. sechellarum* in Seychelles: identification of mycorrhizal fungi and description of new *Tomentella* species. **Mycologia**, n. 102, p. 522 – 533, 2010.

TAMURA, K.; KUMAR, S.; NEI, M. Mega: integrated software for molecular evolutionary genetics analysis and sequence alignment. **Briefings in Bioinformatics**, Baltimore, n. 5, p.150 - 163, 2006.

TEDERSOO, L. *et al.* Ectomycorrhizal fungi of the *Seychelles*: diversity patterns and host shifts from the native *Vateriopsis sechellarum* (*Dipterocarpaceae*) and *Intsia bijuca* (*Caesalpinaceae*) to the introduced *Eucalyptus robusta* (*Myrtaceae*), but not *Pinus caribea* (*Pinaceae*). **New Phytol**, n. 175, p. 321 – 333, 2007.

TEDERSOO, L. *et al.* Strong host preference of ectomycorrhizal fungi in a Tasmanian wet sclerophyll forest as revealed by DNA barcoding and taxon-specific primers. **New Phytol**, n. 180, p. 479 – 490, 2008.

TEDERSOO L.; *et al.* Ectomycorrhizas of *Coltricia* and *Coltriciella* (*Hymenochaetales*, *Basidiomycota*) on *Caesalpinaceae*, *Dipterocarpaceae* and *Myrtaceae* in *Seychelles*. **Mycol Prog**, n. 6, p. 101–107, 2008.

TEDERSOO, L.; MAY, T.W.; SMITH, M.E. Ectomycorrhizal lifestyle in fungi: global diversity, distribution, and evolution of phylogenetic lineages. **Mycorrhiza**, n. 20, p. 217 – 263, 2009.

THIERS, H.D. The secotioid syndrome. **Mycologia**, n. 76, p. 1 – 8, 1984.

THOEN, D. Looking for ectomycorrhizal trees and ectomycorrhizal fungi in tropical Africa. In: Issac, S.; *et al.* Eds. **Aspects of Tropical Mycology**. Cambridge University Press. 1992.

TRAPPE, J. *et al.* **Diversity, ecology, and conservation of truffle fungi in forests of the Pacific Northwest**. USDA General technical, Pacific Northwest Research Station, 2009.

TRIERVEILER-PEREIRA, L.; BASEIA, I.G. A checklist of the Brazilian gasteroid fungi (*Basidiomycota*). **Mycotaxon**, n. 108, p. 441 – 444, 2009.

VELOSO, H.P.; FILHO A.L.R.; LIMA, J.C.A. **Classificação da vegetação brasileira, adaptada a um sistema universal**. Fundação Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), Rio de Janeiro, 1991.

VELLINGA, E.C.; WOLFE, B.E.; PRINGLE, A. Global patterns of ectomycorrhizal introductions. **New Phytologist**, n. 10, p. 1 - 14, 2009.

VERBEKEN, A. New taxa of *Lactarius* (*Russulaceae*) in tropical Africa. **Bull. Jard. Bot Nat. Belg.**, n. 65, p. 197 – 213, 1996.

VERBEKEN, A., *et al.* Studies in tropical African *Lactarius* species 9. Records from Zimbabwe. **Syst. Geogr.** n. 70, p. 181 – 215, 2000.

VERBEKEN, A; BUYCK, B. Diversity and ecology of tropical ectomycorrhizal fungi of Africa. In: WATLING, R. (Ed.) *et al.* **Tropical Mycology**: vol. I. CABI Publishing, UK, 2001. p. 11 – 24.

WANG, B.; QIU, Y.L. Phylogenetic distribution and evolution of mycorrhizas in land plants. **Mycorrhiza**, n. 16, p. 299-363, 2006.

WARTCHOW, F.; MAIA, L.C. The Neotropical *Amanita crebresulcata* Bas: new citation from northeast Brazil. **Hoehnea**, n. 34, p. 131 – 134, 2007.

WARTCHOW, F.; TULLOSS, R.E.; CAVALCANTI, M.A.Q. *Amanita lippiae* – a new species from the semi-arid caatinga region of Brazil. **Mycologia**, n. 101, p. 864 – 870, 2009.

WARTCHOW, F.; CAVALCANTI, M.A.Q. *Lactarius rupestris* - a new species from the Brazilian semi-arid region. **Mycotaxon**, n. 112, p. 55 - 63, 2010.

WATLING, R.; MEIJER, A. de. Macromycetes from the state of Paraná, Brazil. **Edinburgh J. Bot.**, n. 54, p. 231 – 251, 1997.

WEBSTER, J.; WEBSTER, R.W.S. **Introduction to Fungi**. Cambridge University Press. 2007.

WHITE, T.J. *et al.* Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: Innis, M.A. (Eds.) *et al.* **PCR protocols**. A guide to methods and applications. San Diego: Academic press, 1990. p. 315 – 322.

WILSON, A.W.; HOBBI, E.A.; HIBBETT, D.S. The ectomycorrhizal status of *Calostoma cinnabarinum* determined using isotopic, molecular, and morphological methods. **Canadian Journal of Botany**, n. 85, p. 385 – 393, 2007.

WRIGHT, J.E. El género *Setchelliogaster* en Buenos Aires (*Secotiaceae*, Gasteromycetes). **Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica**, n. 19, p. 237 – 241, 1980.

ZELLER, S. M.; DODGE, C. W. *Hysterangium* in North America. **Ann. Mo. Bot. Gdn.**, n. 16, p. 83 – 128, 1929.

ZELLER, S.M. Keys to the orders, families, and genera of the Gasteromycetes. **Mycologia**, n. 41, p. 36 – 58, 1949.

ZHOU, D.Q.; HYDE, K.D. Host-specificity, host-exclusivity and host-recurrence in saprobic fungi. **Mycological Research**, n.105, p. 1449 – 1457, 2001.