

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BOTÂNICA

PSATHYRELLACEAE VILGALYS, MONCALVO & REDHEAD S. L. (AGARICOMYCOTINA, BASIDIOMYCOTA) NO ESTADO DO PARANÁ

Discente: Isabela Oliveira da Silva

Orientador (a): Mateus Arduvino Reck

Coorientadora: Chirlei Glienke

Linha da pesquisa: Evolução e Sistemática

Setembro/2024



Título do projeto: *Psathyrellaceae* Vilgalys, Moncalvo & Redhead s. l. no estado do Paraná

Resumo (sugestão: até 250 palavras):

Psathyrellaceae é uma família de basidiomicetos macroscópicos que se caracteriza por possuir basidiósporos de coloração escura e basidiomas frágeis. Possui ampla distribuição geográfica, mas ainda carece de amostragens mais consistentes, principalmente nas regiões tropicais e subtropicais, como no caso do Brasil. O presente estudo tem como objetivo contribuir com o conhecimento da biodiversidade de macrofungos através de estudos taxonômicos de Psathyrellaceae s. l. no estado do Paraná. As espécies a serem identificadas serão obtidas por meio de coletas e pelo acesso aos materiais depositados em herbários parceiros e no Laboratório de Micologia - UFPR. Para isso, serão submetidas a análises macro- e microestruturais, com base em métodos clássicos de estudos de fungos agaricoides. Também serão realizadas análises filogenéticas dos gêneros e espécies identificados, utilizando ao menos duas regiões do seu DNA, a fim de estabelecer sua posição filogenética e relações evolutivas. Serão elaboradas pranchas com fotografias das estruturas macro e microscópicas, assim como chaves dicotômicas para auxiliar na identificação dos gêneros e espécies do grupo. Espera-se que através do projeto, sejam realizadas análises taxonômicas e filogenéticas dos exemplares da família Psathyrellaceae, fornecendo descrições detalhadas das espécies e dados sobre a sua distribuição no estado do Paraná.

Palavras-chave (sugestão: até 5 palavras-chave): Psathyrella; filogenia; sistemática; funga do Brasil; Basidiomycota;

1. INTRODUÇÃO (sugestão: até 2 páginas)

A origem evolutiva da linhagem dos fungos verdadeiros (Reino Fungi) é estimada em aproximadamente 2 bilhões de anos, sendo que os primeiros microfósseis de fungos já demonstravam que os estes organismos dominavam diversos ambientes há muito tempo (SPRICIGO & NEVES, 2023). Até hoje, os fungos modificam a biosfera, através dos diversos papéis ecológicos que desempenham, como decomposição de matéria orgânica, possuindo papel especial na ciclagem de



nutrientes, além de atuarem também como parasitas ou mutualistas de outros organismos (BAHRAM & NETHERWAY, 2022; DEBELJAK & BALTAR, 2023).

Estima-se que há cerca de 2.2 a 3.8 milhões de espécies de fungos no mundo, sendo apenas 120 mil delas descritas pela ciência, não excedendo o conhecimento de 8% das espécies existentes (HAWKSWORTH & LÜCKING, 2017). Por conseguinte, diversas famílias de fungos se encontram subamostradas, um cenário que é observado em *Psathyrellaceae* Vilgalys, Moncalvo & Redhead, que apesar de amplamente distribuída (ÖRSTADIUS, RYBERG & LARSSON, 2015), é uma família limitada em descrições taxonômicas.

Psathyrellaceae é caracterizada pela coloração escura dos basidiósporos e pelos basidiomas frágeis e relativamente efêmeros, sendo principalmente decompositores de madeira e de serrapilheira, mas também encontrados em esterco ou parasitando outros fungos. A família representa ainda cerca de 90% dos táxons que apresentam deliquescência, abrangendo gêneros conhecidos como "cogumelos tinteiros" que realizam a autodigestão na maturação (NAGY et. al., 2010; NAGY, VÁGVÖLGYI & TAMÁS PAPP, 2012; SINGER, 1986).

Sensu lato (s. l.) é uma expressão do latim que significa sentido amplo (HOLANDA, 1986), na taxonomia é amplamente utilizada para incluir espécies de forma abrangente, tratando o grupo como uma ampla unidade sem se restringir a subgrupos ou clados menores. No presente estudo, sensu lato será empregado para facilitar a visualização das relações evolutivas entre as espécies, funcionando como uma estratégia de flexibilizar a pesquisa, especialmente nas fases iniciais, quando ainda não foram obtidas informações taxonômicas bem definidas das espécies coletadas.

Atualmente a família abrange 16 gêneros (WÄCHTER & MELZER, 2020), tendo como maior e principal representante o gênero *Psathyrella (*Fries) Quélet, sendo definido pelo holótipo *Psathyrella gracilis* (Fries) Quélet e caracterizado pela efemeridade do píleo e a presença de esporada escura que perde sua pigmentação sob ácido sulfúrico (PADAMSEE et. al., 2008).

No Brasil, os trabalhos mais recentes sobre a família foram realizados nas dissertações de Deny Vanessa Bonilla Soto (2022), Ana Rafaela Pontes Gomes (2017) e Bárbara Letícia Botura Schünemann (2019), tendo os dois últimos estudos um enfoque no grupo de fungos coprinoides. Segundo a Flora e Funga do Brasil (2024) são registrados cinco gêneros para o país: *Coprinellus* P. Karst., *Coprinopsis*



P. Karst., *Lacrymaria* Pat., *Parasola* Redhead, Vilgalys & Hopple e *Psathyrella*, totalizando apenas treze espécies.

Os registros de *Psathyrellaceae* para o estado do Paraná incluem quatro gêneros, sendo eles *Coprinellus, Coprinopsis, Parasola* e *Psathyrella*, contemplando 41 espécies, sendo que estas estão somente listadas, sem descrições morfológicas e discussões taxonômicas (MEIJER, 2006; MEIJER 2010). O número de espécies de *Psathyrellaceae* registradas somente para o Paraná, está em desacordo com o Flora e Funga do Brasil (2024) que registra apenas treze espécies, sugerindo que o site deve ser revisado e atualizado.

Nesse contexto, o presente estudo se fundamenta em contribuir com a evolução do conhecimento em biodiversidade, especialmente em macrofungos, propondo identificar as espécies da família *Psathyrellaceae* s. l. no estado do Paraná, fornecendo dados acerca da sua distribuição e informações sobre a sua taxonomia e filogenia.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA (sugestão: até 10 páginas)

A perspectiva histórica de *Psathyrellaceae* envolve diversas mudanças ao longo do tempo. As espécies que atualmente são aceitas na família, inicialmente estavam atribuídas em *Coprinaceae* Overeem & Weese, e classificadas principalmente no gênero *Psathyrella* Fries ex Quélet.

Psathyrella passou por diversas revisões de sua circunscrição, de acordo com Smith (1941), o gênero era definido por espécies de basidiomas frágeis e acabava englobando diversos grupos de fungos, uma vez que a nomenclatura da época não permitia pequenas circunscrições aos gêneros e dificultava a reorganização dessas espécies. Assim, Smith (1941) apresenta entre descrições, novas espécies e combinações, 24 espécies no gênero Psathyrella em seu estudo sobre os Agáricos da América do Norte.

Smith (1972) definiu em sua monografia sobre as espécies de *Psathyrella* da América do Norte o objetivo delimitar as espécies de maneira mais eficiente. Dessa forma, foi proposta uma nova organização sistemática do gênero, dividindo-o em 11 subgêneros, distribuídos em seções e em subseções, contemplando cerca de 400 espécies.

Kits Van Waveren (1985) fez sua contribuição através da monografia com as espécies ocorrentes na Europa e uma nova organização do gênero, também dividindo



Psathyrella em subgêneros, sendo dois principais: Psathyra e Psathyrella, com as demais seções e subseções. A forma de classificar as espécies para Waveren (1985) era mais ampla se comparada a Smith (1972), diversas espécies foram consideradas sinônimos sendo assim, reconhecidas 123 espécies para o gênero.

Para Singer (1949; 1986), a melhor forma de se organizar as espécies era dividir a família *Coprinaceae* em três subfamílias: *Coprinoideae*, *Psathyrelloidae* e *Panaeoloideae*. A classificação organizada por Singer (1986) contemplava os gêneros *Coprinus* Pers., *Macrometrula* Donk & Singer, *Psathyrella* Fries ex Quélet, *Panaeolina* Maire, *Panaeolus* (Fries) Quélet, *Copelandia* Bres. e *Anellaria* P. Karst.

Redhead et. al. (2001) observaram que as características morfológicas anteriormente consideradas não eram significativas para a separação dos gêneros, mas que ganham grande importância quando combinadas a estudos moleculares, sendo necessárias mudanças na organização dos táxons. Dessa forma, foi proposto que o gênero-tipo de *Coprinaceae (Coprin*us) deveria ser dividido em mais gêneros e que na verdade *Coprinus s.s.* deveria ser integrante de *Agaricaceae* Chevall. Assim, os gêneros *Coprinellus* P. Karst., *Parasola* Redhead, Vilgalys & Hopple, e *Coprinopsis* P. Karst. foram propostos como gêneros vinculados a uma nova família, chamada *Psathyrellaceae* (REDHEAD et. al., 2001).

Nagy et. al. (2010 e 2011) realizaram estudos filogenéticos sobre as características evolutivas presentes nos basidiomas de *Psathyrellaceae*, como a capacidade de autodigestão e a sua correlação com a morfologia dos basidiomas, sugerindo que a deliquescência é um caractere importante para entender a evolução e diversificação do grupo.

Nagy, Vágvölgyi e Papp (2012), através de análises filogenéticas, apresentam circunscrições morfológicas para 14 clados de *Psathyrellaceae*, oferecerendo robustez à filogenia da família que antes eram baseadas em baixos valores de suporte e amostras de táxons não confiáveis.

Örstadius, Ryberg e Larsson (2015) descreveram 18 novas espécies para a família e propuseram uma reclassificação que considera *Kauffmania* Örstadius & E. Larss. como um novo gênero, referendam *Homophron* (Britzelm.) Örstadius & E. Larss. como táxon válido, agregam novas combinações para alguns gêneros já existentes e fornecem uma chave para 106 espécies psatireloides.

Wächter e Melzer (2020) propõem que o gênero *Hausknechtia* D. Wächter & A. Melzer englobe *Galerella floriformis* (Hauskn.) D. Wächt. & A. Melzer, além de



reconhecerem seis novos gêneros. Ademais, *Psathyrella*, *Coprinellus*, *Coprinopsis* e *Parasola* são subdivididos em novas seções e uma chave com base em caracteres morfológicos é proposta.

A proposta mais recente de novas combinações à família foi realizada por Bau e Yan (2021) para incluir o novo gênero *Heteropsathyrella* T. Bau & J.Q. Yan, estudo no qual adicionou a descrição de quatro novas espécies ao clado *Psathyrella* s. I.

As coletas realizadas por Pe. Johannes Rick (1961) foram precursoras para a família no Brasil, sendo onze exemplares classificados para o gênero *Psathyra* (Fr.) P. Kumm. e cinco para *Psathyrella*. As espécies de *Psathyra* foram transferidas para *Psathyrella*, tornando-o um gênero obsoleto atualmente.

Meijer (2006) registra 20 espécies para o gênero *Psathyrella* no estado do Paraná; já Meijer (2008) descreve uma nova espécie para o estado, *Psathyrella microcarpella* de Meijer. Em Meijer (2010), são realizadas correções na identificação de algumas espécies, sendo reclassificadas sete espécies em *Coprinellus*, onze espécies em *Coprinopsis* e três espécies em *Parasola*, sendo estas contribuições importantes sobre a distribuição de *Psathyrellaceae* no estado do Paraná.

Putzke e Putzke (2017) reunem informações acerca dos gêneros de Psathyrellaceae encontrados no Brasil e compilam as descrições de espécies que antes eram distribuídas em várias bibliografias, em uma publicação para o país.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Contribuir para o conhecimento taxonômico das espécies de *Psathyrellaceae* s. I. no estado do Paraná.

3.2 Objetivos específicos

- Investigar quais as espécies são ocorrentes no estado do Paraná, tanto depositadas em herbários quanto as obtidas por meio de novas coletas.
- Analisar a distribuição geográfica das espécies nos diferentes ecossistemas do PR.
- Descrever e registrar as estruturas macroscópicas e microscópicas das espécies encontradas.



- Produzir chaves dicotômicas para identificação das espécies.
- Apresentar as relações evolutivas das espécies através de análises filogenéticas baseadas em caracteres moleculares.
- Descrever novidades científicas ou de distribuição das espécies encontradas.

4. MATERIAL E MÉTODOS (sugestão: até 8 páginas)

4.1 Área de estudo

Durante o ano de 2024, as coletas serão realizadas nos municípios de Palotina, Toledo, Foz do Iguaçu, Maringá, Guarapuava, Antonina, Morretes e Curitiba (Tabela 1), nas regiões Oeste, Norte Central, Centro-Sul e a região Metropolitana, que inclui o litoral e a escarpa situada no Primeiro Planalto do estado do Paraná.

As regiões de coleta apresentam a classificação climática Cfa e Cfb de Köppen, sendo a categoria Cfa de clima subtropical com temperaturas médias inferiores a 18°C no inverno e superiores a 22°C no verão, chuvas frequentes nos meses mais quentes e sem estação seca. A categoria Cfb representa um clima temperado, com verões moderadamente quentes e temperaturas médias inferiores a 18°C no inverno e 22°C no verão, também não apresenta estação seca definida (APARECIDO et. al., 2016).

A fitogeografia das regiões onde serão coletados materiais apresentam formações vegetais de Floresta Estacional Semidecidual (FES), Floresta Ombrófila Mista (FOM), Floresta Ombrófila Densa (FOD) e Estepe, localizadas no bioma da Mata Atlântica.

A FES é caracterizada por sua semidecidualidade, na qual até 50% das folhas do dossel se perdem, está presente em regiões quentes com chuvas frequentes e poucas geadas com estiagens durante o inverno.

A FOM ou Floresta com Araucária é marcada pela presença do pinheiro-doparaná, apresentando mais chuvas no verão e menos durante os invernos, a composição florística sofre influência pelas baixas temperaturas.

A FOD ou Floresta Atlântica, apresenta chuvas intensas e bem distribuídas durante o ano, é influenciada pelas massas de ar quente e úmido vindas do oceano Atlântico, além de diversificada e heterogênea apresenta grande força vegetativa.

A estepe está presente em uma condição semiárida, sendo representada principalmente por gramíneas e agrupamentos arbóreos isolados ou próximo a rios (RODERJAN et. al., 2002; WREGE et. al., 2017).



TABELA 01. DATAS E LOCAIS DE COLETA.

Cidade	Local de coleta	Data prevista para	Coordenadas					
		coleta						
Palotina	UFPR – Setor Palotina	Abril a Dezembro /2024	24°17'45"S 53°50'34"W					
	Parque Estadual do São		24°18'40.5"S 53°54'48.7"W					
	Camilo							
Toledo	Parque do Povo - Luiz	Dezembro/2024	24°41'43"S 53°45'21"W					
	Cláudio Hoffmann							
Foz do Iguaçu	UNILA	Janeiro/2025	25°27'53"S 54°34'21"W					
	Parque Nacional do	Janeiro/2025	25°27'36.9"S 53°49'04.1"W					
	Iguaçu							
Santa	Parque Estadual "Mata	Dezembro/2024	23°08'51.1"S 50°34'17.8"W					
Mariana	São Francisco"							
Maringá	Parque do Ingá	Dezembro/2024	23°25'32.7"S 51°55'58.5"W					
Irati	Flona de Irati	Novembro/2024						
			25°21'08.5"S 50°33'52.2"W					
0	Dannie de Cal	Nava k (000 4	05°00'40 0"0 51°00'07 5"W					
Guarapuava	Parque do Sol	Novembro/2024	25°20'49.2"S 51°28'07.5"W					
	Parque Municipal do Rio	Novembro/2024	25°26'25.4"S 51°27'15.3"W					
	Jordão	Novembro/2004	25°03'48.1"S 51°17'47.4"W					
	Parque Estadual Salto São Francisco da	Novembro/2024						
	Esperança Parque Municipal das	Novembro/2024	25°21'04.5"S 51°27'58.8"W					
	Araucárias	Novembro/2024						
Campo Largo	Flona de Assungui	Janeiro/2025						
Campo Largo	Floria de Assurigui	Janeiro/2025	25°09'37.0"S 49°38'39.9"W					
Curitiba	UFPR – Centro	Abril a Dezembro/2024	25°27'00"S 49°13'59"W					
	Politécnico							
Campo	Parque Estadual do Lago	Fevereiro/2025	24°06'15.2"S 52°19'32.2"W					
Mourão	Azul							
Antonina	Reserva Natural	Março/2024	25°18'49.1"S 48°41'43.9"W					
	Guaricica - SPVS							
	Fanta: A	utora (2024)	1					

Fonte: Autora (2024).

4.2 Coletas



As coletas serão realizadas de acordo com a disponibilidade financeira do projeto e serão planejadas de maneira estratégica, visando coincidir as viagens com os períodos de chuva. Todavia, os materiais depositados no Laboratório de Micologia da UFPR - LABMIC, no herbário Flora e Funga do Oeste do Paraná (FFOP) e entre outros herbários parceiros serão prioritariamente analisados.

A metodologia de coleta será oportunista, ou seja, coletam-se os basidiomas que se assemelham à princípio, macroscopicamente, com a família. Preferencialmente após um período de chuva, os cogumelos serão coletados utilizando de canivetes ou facas, sendo ainda fotografados em conjunto a uma escala, que pode ser uma trena ou régua, o procedimento deve ser cuidadoso, principalmente com basidiomas mais frágeis e deliquescentes.

Posteriormente, os basidiomas serão acomodados em potes ou em pacotes de papel e serão levados até o laboratório, neste local, o material será encaminhado para uma estufa a uma temperatura de aproximadamente 40°C, em um período de um dia, o material estará seco e disponível para as análises microscópicas.

4.3 Análises morfológicas

4.3.1 Análises macroscópicas

As análises macroscópicas seguirão a literatura de (LARGENT, 1986; PEREIRA & PUTZKE, 1989) e serão realizadas logo após a coleta, para aproveitar o material fresco e obter o máximo de informações. Serão analisadas as colorações, formas, texturas, consistências, e principalmente as medidas das estruturas dos basidiomas, sendo píleo, contexto, lamelas e estipe. As colorações seguirão a carta de cores de Kornerup & Wanscher (1978), a fim de evitar a subjetividade em relação as cores e tons, visando a padronização.

Serão ainda registradas as características adicionais ao material, como mudanças na coloração conforme manuseio, odor, presença de rizomorfas, tipos de associações com a vegetação ou outros aspectos importantes que podem ajudar na identificação do grupo.

4.3.2 Análises microscópicas

As análises microscópicas consistem em realizar cortes à mão livre do material, do material fresco, ou reidratados quando secos, após os cortes será feita a montagem das lâminas, que geralmente utilizam dos reagentes hidróxido de potássio (KOH) 5%,



reagente de Melzer para observação de reações amiloide ou dextrinoide (SINGER, 1986) e Vermelho Congo quando o objetivo é corar as estruturas, para melhor visualizá-las. Assim que as lâminas estiverem prontas, utiliza-se um microscópio óptico com uma câmera acoplada para observar e fotografar as microestruturas.

Os caracteres micromorfológicos considerarão no mínimo 25 medições dos basidiósporos, basídios, cistídios e demais hifas da superfície do píleo, do estipe, contexto do píleo e das lamelas, conforme detalhado por Largent (1977), além de serem apontadas as características das estruturas.

Dessa maneira, as fotos também servirão para efetuar as medidas em escala micrométrica dos caracteres, o software Motic Images Plus 2.0. será empregue para realizar as fotomicrografias e as medições, as pranchas com as imagens macro- e microscópicas serão elaboradas através do software Adobe Photoshop CS 21.0.2.

4.4 Extração DNA, amplificação da PCR e sequenciamento

As análises moleculares serão realizadas no Laboratório de Bioprospecção e Genética Molecular Microrganismos (BioGeMM), Setor de Ciências Biológicas - UFPR, Curitiba. Para as extrações de DNA das amostras, os basidiomas desidratados serão macerados e submetidos ao protocolo de Raeder & Broda (1985), e observados no gel de agarose (0,7%) pela técnica da eletroforese.

A região parcial inicialmente escolhida para a amplificação é a região ITS (*internal transcribed spacer*), devida a sua ampla utilização como marcador para identificação molecular (DNA *barcoding*) e estudos de filogenia de fungos (SCHOCH et al. 2012). A região LSU (*large subunit*) também será amplificada a fim de oferecer resoluções aos níveis taxonômicos superiores ao nível de espécie (KLAUBAUF et. al., 2010; PORRAS-ALFARO, 2014), caso necessário, adicionaremos outras regiões de gene para análise concatenada.

A reação de polimerase em cadeia (PCR) será realizada utilizando os primers V9G e ITS4 (DE HOOG & GERRITS VAN DEN ENDE, 1998; WHITE et. al., 1990) para a amplificação da região ITS e para a região LSU os primers utilizados serão LR0R e LR5/LR7 (MUNOZ et. al., 2021; YAN et. al., 2019). A etapa de purificação será realizada com o auxílio do método Sephadex, para então serem lidas pelo sequenciador automático.



Os cromatogramas e alinhamentos obtidos serão editados através do software MEGA 11 (TAMURA, STECHER & KUMAR; 2021). As sequências geradas por esse estudo serão comparadas com as obtidas através do banco de dados NCBI/GenBank (National Center for Biotechnology Information) utilizando das sequências-tipo das espécies depositadas online. O alinhamento das sequencias será realizado utilizando o software MAFFT (KATOH, ROZEWICKI & YAMADA, 2019).

A seleção dos modelos evolutivos será realizada através do software PhyloSuite (XIANG et. al., 2023; ZHANG et. al., 2019) utilizando o ModelFinder (LANFEAR et. al., 2016). As análises filogenéticas também serão conduzidas utilizando o PhyloSuite. Para a análise de Máxima Verossimilhança será empregado o plug-in do IQ-TREE (NGUYEN, et. al., 2014), enquanto que, para a Inferência Bayesiana, o programa MrBayes (RONQUIST et. al., 2012) será implementado. A visualização e edição das árvores serão realizadas utilizando o software FigTree v1.4.4 (RAMBAUT, 2018).

5. RESULTADOS ESPERADOS (sugestão: até 1 página)

Os resultados previstos visam a realização de coletas da família *Psathyrellaceae* nos locais determinados pelo estudo, mas que se priorizam os resultados obtidos pela identificação dos materiais que foram depositados no Herbário FFOP e LABMIC e que ainda não foram submetidos a análise.

Sendo assim, as resoluções do projeto irão contribuir com as informações taxonômicas em aspectos macro- e microscópicos das espécies de *Psathyrellaceae*, que serão elucidados pela elaboração de pranchas e chaves de identificação.

Em conjunto com a taxonomia, as contribuições do estudo também trarão um panorama das relações filogenéticas presentes na família. Ademais, espera-se que a região ITS e LSU do DNA seja, mesmo que inicialmente, informativa para as espécies encontradas e que, as sequências obtidas através deste estudo sejam esclarecedoras e possam possibilitar boas resoluções nas árvores filogenéticas.

6. VIABILIDADE E RISCOS (sugestão: até 1 página)

Conforme anteriormente mencionado, as coletas serão realizadas mediante a disponibilidade, mas uma vez que os materiais de herbários e do laboratório de Micologia da UFPR – Curitiba já estão sendo analisados, continuarão a ser as prioridades nas análises.



As análises taxonômicas requerem equipamentos presentes no Laboratório de Micologia da UFPR (LABMIC) – Curitiba, que dispõe de um microscópio trilocular para identificar e fotografar as estruturas.

As análises filogenéticas serão conduzidas no Laboratório de Bioprospecção e Genética Molecular de Microorganismos (BioGeMM) da UFPR – Curitiba, que também dispõe dos equipamentos necessários para a realização das técnicas de biologia molecular.

As dificuldades que podem ser enfrentadas durante o estudo circundam as coletas, uma vez que para os basidiomas surgirem, há uma união de variáveis ambientais influenciando o aparecimento dos cogumelos, incluindo a chuva, a temperatura, a quantidade de matéria orgânica e entre outros.

Em contrapartida, mediante a observação, *Psathyrellaceae* é uma família de fungos abundantes e cosmopolitas, que são facilmente encontrados em fragmentos florestais, ainda que ocorra mudanças no ambiente de coleta, haverá espécies a serem analisadas.

Outros desafios a serem ponderados estão relacionados à biologia molecular, durante as etapas de extração do DNA, amplificação da PCR, e por fim o sequenciamento, é assumido que alguns erros possam ser cometidos, de maneira individual ou pela condição dos equipamentos, mas que podem ser transpostos com uma série de tentativas e busca de protocolos alternativos.

7. CRONOGRAMA DE EXECUÇÃO

Eventos	Pe	ríod	os d	e ex	ecuç	;ão(r	nese	es)																
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	1	1	1 2	1	1	1 5	1	1 7	1 8	1 9	2	2	2 2	2	2
Entrega do projeto							х																	
Discipli- nas	x	X	х	x	х		х	х	x	х														
Estágio em docência							х	х	х	х														
Relatório												х												
Relatório																		х						
Coletas	х	х	х	х	х	х	х	х	х	х	х	х												
Identifi- cação do material					х	х	х	х	х	х	х	х	х											
Extração do DNA, sequen-														х	x	х	x	х						
ciamento																								



Redação disserta- ção									X	X	X	X	X	X	X	
Defesa																X

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

APARECIDO, L. E. O.; ROLIM, G. S.; RICHETTI, J.; SOUZA, P. S.; JOHANN, J. A. Köppen, Thornthwaite and Camargo climate classifications for climatic zoning in the State of Paraná, Brazil. **Ciência e Agrotecnologia**, [S.L.], v. 40, n. 4, p. 405-417, ago. 2016. FapUNIFESP (SciELO). http://dx.doi.org/10.1590/1413-70542016404003916.

BAHRAM, M.; NETHERWAY, T. Fungi as mediators linking organisms and ecosystems. **Fems Microbiology Reviews**, [S.L.], v. 46, n. 2, p. 1-16, 17 dez. 2021. Oxford University Press (OUP). http://dx.doi.org/10.1093/femsre/fuab058.

BAU, T.; YAN, J. A new genus and four new species in the /*Psathyrella* s.l. clade from China. **Mycokeys**, [S.L.], v. 80, p. 115-131, 26 mai. 2021. Pensoft Publishers. http://dx.doi.org/10.3897/mycokeys.80.65123.

DEBELJAK, P.; BALTAR, F. Fungal Diversity and Community Composition across Ecosystems. **Journal Of Fungi**, [S.L.], v. 9, n. 5, p. 510, 25 abr. 2023. MDPI AG. http://dx.doi.org/10.3390/jof9050510.

DE HOOG, G. S.; GERRITS VAN DEN ENDE, A. H.G. Molecular diagnostics of clinical strains of filamentous Basidiomycetes. **Mycoses**, [S.L.], v. 41, n. 5–6, p. 183–189, 1998. Disponível em: https://doi.org/10.1111/j.1439-0507.1998.tb00321.x

FLORA E FUNGA DO BRASIL. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: http://floradobrasil.jbrj.gov.br/. Acesso em: 23 jun. 2024.

GOMES, A. R. P. **Fungos coprinoides** (*Agaricales, Basidiomycota*) em áreas do Nordeste brasileiro. 2017. 77 f. Dissertação (Mestrado em Biologia de Fungos) — Centro de Biociências, Universidade Federal de Pernambuco. Recife (PE), 2017. Disponível em: https://repositorio.ufpe.br/handle/123456789/25565. Acesso em: 15 abr. 2024.

HAWKSWORTH, D. L.; LÜCKING, R. Fungal Diversity Revisited: 2.2 to 3.8 million species. **Microbiology Spectrum**, [S.L.], v. 5, n. 4, p. 1-17, 25 ago. 2017. American Society for Microbiology. http://dx.doi.org/10.1128/microbiolspec.funk-0052-2016.

HE, M.; ZHAO, R.; LIU, D.; DENCHEV, T. T.; BEGEROW, D.; YURKOV, A.; KEMLER, M.; MILLANES, A. M.; WEDIN, M.; MCTAGGART, A. R. Species diversity of Basidiomycota. **Fungal Diversity**, [S.L.], v. 114, n. 1, p. 281-325, 14 jan. 2022. Springer Science and Business Media LLC. http://dx.doi.org/10.1007/s13225-021-00497-3.

HOLANDA, A. B. Novo dicionário da língua portuguesa. Rio de Janeiro: Nova Fronteira, v. 2, 1986.

HOPPLE JR, J. S.; VILGALYS, R. Phylogenetic relationships in the mushroom genus Coprinus and dark-spored allies based on sequence data from the nuclear gene coding for the large ribosomal subunit RNA: divergent domains, outgroups, and monophyly. **Molecular phylogenetics and evolution**, v. 13, n. 1, p. 1-19, 1999.

KATOH, K.; ROZEWICKI, J.; YAMADA, K. D. MAFFT online service: multiple sequence alignment, interactive sequence choice and visualization. **Briefings in bioinformatics**, v. 20, n. 4, p. 1160-1166, 2019.

KITS VAN WAVEREN, E. The dutch, french and british species of *Psathyrella*. **Persoonia-Supplement**, [S.L.], v. 2, n. 1, p. 3-300, 1985.

KORNERUP, A., WANSCHER, J.H. **Methuen Handbook of Colour.** London: Eyre Methuen, London, n. 3, 252p.,1978.



- KLAUBAUF, S., INSELSBACHER, E., ZECHMEISTER-BOLTENSTERN, S., WANEK, W., GOTTSBERGER, R., STRAUSS, J., & GORFER, M. Molecular diversity of fungal communities in agricultural soils from Lower Austria. **Fungal diversity**, v. 44, p. 65-75, 2010.
- LANFEAR, R.; FRANDSEN, P. B.; WRIGHT, A. M.; SENFELD, T.; CALCOTT, B. PartitionFinder 2: new methods for selecting partitioned models of evolution for molecular and morphological phylogenetic analyses. **Molecular Biology And Evolution**, [S.L.], 23 dez. 2016. Oxford University Press (OUP). http://dx.doi.org/10.1093/molbev/msw260.
- LARGENT, D.L. **How to Identify Mushrooms to Genus I: macroscopic features.** Eureka: Mad Press Inc., n. 1, p. 1-166, jan. 1986.
- LARGENT, D. L. **How to Identify Mushrooms to Genus III: microscopic features**. Eureka: Mad River Press Inc., n. 3, p. 1-148, jan. 1977.
- MEIJER, A. A. R. Macrofungos notáveis das Florestas de Pinheiro-do-Paraná. Colombo: Embrapa, 2008.
- MEIJER, A. A. R. Preliminary checklist of the macromycetes from the Brazilian State. **Boletim do Museu Botânico Municipal**, Curitiba, v. 68, p. 1-55, 2006.
- MEIJER, A. A. R. Preliminary list of the macromycetes from the Brazilian state of Paraná: corrections and updating. **Boletim do Museu Botânico Municipal**, Curitiba, v. 72, p. 1-10, 2010.
- MUNOZ, G.; MUSUMECI, E.; DESCHUYTENEER, D.; OLARIAGA, I. *Psathyrella griseovelata* sp. nov. (*Basidiomycota*, *Psathyrellaceae*), encontrada en La Rioja (Espana). **Fungi Iberici**, v. 2, p. 27-39, 31 dez. 2021. Sociedad(e) Iberica de Micologia. http://dx.doi.org/10.51436/funiber/02.002.
- NAGY, L. G.; URBAN, A.; ÖRSTADIUS, L.; PAPP, T.; LARSSON, E.; VÁGVÖLGYI, C. The evolution of autodigestion in the mushroom family *Psathyrellaceae* (*Agaricales*) inferred from Maximum Likelihood and Bayesian methods. **Molecular Phylogenetics And Evolution**, [S.L.], v. 57, n. 3, p. 1037-1048, dez. 2010. Elsevier BV. http://dx.doi.org/10.1016/j.ympev.2010.08.022.
- NAGY, L. G.; VÁGVÖLGYI, C.; PAPP, T. Morphological characterization of clades of the *Psathyrellaceae* (*Agaricales*) inferred from a multigene phylogeny. **Mycological Progress**, [S.L.], v. 12, n. 3, p. 505-517, 5 out. 2012. Springer Science and Business Media LLC. http://dx.doi.org/10.1007/s11557-012-0857-3.
- NAGY, L. G.; WALTHER, G.; HÁZI, J.; VÁGVÖLGYI, C.; PAPP, T. Understanding the Evolutionary Processes of Fungal Fruiting Bodies: correlated evolution and divergence times in the Psathyrellaceae. **Systematic Biology**, [S.L.], v. 60, n. 3, p. 303-317, 2 mar. 2011. Oxford University Press (OUP). http://dx.doi.org/10.1093/sysbio/syr005.
- NGUYEN, L.; SCHMIDT, H. A.; VON HAESELER, A.; MINH, B. Q. IQ-TREE: a fast and effective stochastic algorithm for estimating maximum-likelihood phylogenies. **Molecular Biology And Evolution**, [S.L.], v. 32, n. 1, p. 268-274, 3 nov. 2014. Oxford University Press (OUP). http://dx.doi.org/10.1093/molbev/msu300.
- ÖRSTADIUS, L.; RYBERG, M.; LARSSON, E. Molecular phylogenetics and taxonomy in *Psathyrellaceae* (*Agaricales*) with focus on psathyrelloid species: introduction of three new genera and 18 new species. **Mycological Progress**, [S.L.], v. 14, n. 5, p. 1-42, 11 abr. 2015. Springer Science and Business Media LLC. http://dx.doi.org/10.1007/s11557-015-1047-x.
- PADAMSEE, M.; MATHENY, P. B.; DENTINGER, B. T.M.; MCLAUGHLIN, D. J. The mushroom family *Psathyrellaceae*: evidence for large-scale polyphyly of the genus *Psathyrella*. **Molecular Phylogenetics And Evolution**, [S.L.], v. 46, n. 2, p. 415-429, fev. 2008. Elsevier BV. http://dx.doi.org/10.1016/j.ympev.2007.11.004.
- PEREIRA, A. B; PUTZKE, J. Famílias e gêneros de Fungos *Agaricales* (cogumelos) no Rio Grande do Sul. Livraria e Editora da FISC. Santa Cruz do Sul, 188p.,1989.
- PORRAS-ALFARO, A.; LIU, K.; KUSKE, C. R.; XIE, G. From Genus to Phylum: large-subunit and internal transcribed spacer rrna operon regions show similar classification accuracies influenced by



database composition. **Applied And Environmental Microbiology**, v. 80, n. 3, p. 829-840, fev. 2014. American Society for Microbiology. http://dx.doi.org/10.1128/aem.02894-13.

PUTZKE, J.; PUTZKE, M. Cogumelos (fungos Agaricales s. l.) no Brasil – Volume I: Famílias Agaricaceae, Amanitaceae, Bolbitaceae, Entolomataceae, Coprinaceae/Psathyrellaceae, Crepidotaceae e Hygrophoraceae, São Gabriel, v. 1, p. 168-269, 2017.

RAEDER, U.; BRODA, P. Rapid preparation of DNA from filamentous fungi. **Letters in Applied Microbiology**, v. 1, n. 1, p. 17-20, 1985.

RAMBAUT, A. Figtree, a graphical viewer of phylogenetic trees, version 1.4. 4. Institute of Evolutionary Biology, University of Edinburgh. 2018.

REDHEAD, S. A.; VILGALYS, R.; MONCALVO, J.; JOHNSON, J.; HOPPLE, J. S. *Coprinus* Pers. and the disposition of *Coprinus* species sensu lato. **Taxon**, [S.L.], v. 50, n. 1, p. 203-241, fev. 2001. Wiley. http://dx.doi.org/10.2307/1224525.

RICK, J. Basidiomycetes Eubasidii in Rio Grande do Sul – Brasilia. **Iheringia Série Botânica**, 8, p. 296–450, 1961.

RODERJAN, C. V.; GALVÃO, F.; KUNIYOSHI, Y. S.; HATSCHBACH, G. G. (2002). As unidades fitogeográficas do estado do Paraná, Brasil. **Ciência & Ambiente**, v. 24, n. 1, p. 75-92, 2002.

RONQUIST, F.; TESLENKO, M.; MARK, P. D.; AYRES, D. L.; DARLING, A.; HÖHNA, S.; LARGET, B.; LIU, L.; SUCHARD, M. A.; HUELSENBECK, J. P. MrBayes 3.2: efficient bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space. **Systematic Biology**, [S.L.], v. 61, n. 3, p. 539-542, 22 fev. 2012. Oxford University Press (OUP). http://dx.doi.org/10.1093/sysbio/sys029.

SCHOCH, C. L.; SEIFERT, K. A.; HUHNDORF, S.; ROBERT, V.; SPOUGE, J. L.; LEVESQUE, C. A.; ... & WHITE, M. M. (2012). Nuclear ribosomal internal transcribed spacer (ITS) region as a universal DNA barcode marker for Fungi. **Proceedings of the national academy of Sciences**, USA, v. 109, n. 16, p. 6241-6246, 2012.

SCHÜNEMANN, B.L.B. **Fungos coprinoides do Rio Grande do Sul.** 2019. 95 f. Dissertação (Mestrado em Botânica) – Instituto de Biociências, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre (RS), 2019. Disponível em: https://repositorioceme.ufrgs.br/handle/10183/212885. Acesso em: 28 abr. 2024.

SINGER, R. The Agaricales (mushrooms) in modern taxonomy. Lilloa, [S.L.], p. 1-833, 1949.

SINGER, R. The Agaricales in Modern Taxonomy. 4. ed. Koeningstein: Koeltz Scientific Books, 1986.

SMITH, A. H. Studies of North Agarics: 1. University of Michigan Press, [S.L.], v. 5, p. 1-73. 1941.

SMITH, A. H. The north American species of *Psathyrella*. **Mem. NY Bot. Gard.**, [S.L.], v. 24, p. 1-633, 1972.

SOTO, D. V. B. **Estudos taxonômicos de fungos Psatireloides** (*Psathyrellaceae- basidiomycota*) **no Sul do Brasil**. 2022. 82 f. Dissertação (Mestrado em Botânica) — Instituto de Biociências, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre (RS), 2022. Disponível em: https://lume.ufrgs.br/handle/10183/276261 . Acesso em: 30 mar. 2024.

SPRICIGO, M. C.; NEVES, M. A. **Uma breve história dos fungos na evolução da Terra**. Florianópolis: UFSC, 2023. Disponível em: ISBN 978-85-8328-177-1. Acesso em: 20 abr. 2024.

TAMURA K.; STECHER, G.; KUMAR, S. MEGA11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 11. **Molecular Biology and Evolution** 38, 3022-3027, 2021. DOI: 10.1093/molbev/msab120

WÄCHTER, D.; MELZER, A. Proposal for a subdivision of the family *Psathyrellaceae* based on a taxonrich phylogenetic analysis with iterative multigene guide tree. **Mycological Progress**, [S.L.], v. 19, n. 11, p. 1151-1265, nov. 2020. Springer Science and Business Media LLC. http://dx.doi.org/10.1007/s11557-020-01606-3.



- WHITE, T. J.; BRUNS, T.; LEE, S.; TAYLOR, J. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. PCR protocols: a guide to methods and applications, **Academic Press**, n. 1, p. 315-322, 1990.
- WREGE, M. S.; GARRASTAZU, M. C.; SOARES, M. T. S.; FRITZSONS, E.; SOUSA, V. A.; AGUIAR, A. V. Plant vegetation types in the state of Paraná and the new scenarios defined by global climate change. **Ambiência**, Guarapuava, v. 13, n. 3, p. 600-615, 2017. GN1 Sistemas e Publicacoes Ltd. http://dx.doi.org/10.5935/ambiencia.2017.03.05.
- XIANG, C.; GAO, F.; JAKOVLIć, I.; LEI, H.; HU, Y.; ZHANG, H.; ZOU, H.; WANG, G.; ZHANG, D. Using PhyloSuite for molecular phylogeny and tree-based analyses. **Imeta**, [S.L.], v. 2, n. 1, fev. 2023. Wiley. http://dx.doi.org/10.1002/imt2.87.
- YAN, J.; GE, Y.; HU, D.; ZHOU, J.; HUO, G. *Psathyrella tintinnabula* sp. nov. (*Psathyrellaceae*, *Agaricales*), a new species from southwest China. **Phytotaxa**, v. 400, n. 2, p. 64, 3 abr. 2019. Magnolia Press. http://dx.doi.org/10.11646/phytotaxa.400.2.2.
- ZHANG, D.; GAO, F.; JAKOVLIĆ, I.; ZOU, H.; ZHANG, J.; LI, W. X.; WANG, G. T. PhyloSuite: an integrated and scalable desktop platform for streamlined molecular sequence data management and evolutionary phylogenetics studies. **Molecular Ecology Resources**, [S.L.], v. 20, n. 1, p. 348-355, 6 nov. 2019. Wiley. http://dx.doi.org/10.1111/1755-0998.13096.





 ${\tt Documento: \textbf{ProjetoMestradolsabelalAT.pdf}}.$

Assinatura Simples realizada por: **Isabela Oliveira da Silva (XXX.984.549-XX)** em 01/11/2024 11:34 Local: CIDADAO.

Inserido ao protocolo **22.992.677-2** por: **Isabela Oliveira da Silva** em: 01/11/2024 11:34.



Documento assinado nos termos do Art. 38 do Decreto Estadual $n^{\underline{o}}$ 7304/2021.