

ELFIE FERNANDES DE SOUSA

**Contribuições taxonômicas para o gênero *Cortinarius* (Agaricaceae,
Basidiomycota) da região amazônica**

UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DA NATUREZA
CURSO DE BACHARELADO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

João Pessoa

2023

ELFIE FERNANDES DE SOUSA

**Contribuições taxonômicas para o gênero *Cortinarius* (Agaricaceae,
Basidiomycota) da região amazônica**

Monografia apresentada ao Curso de Ciências Biológicas (Trabalho Acadêmico de conclusão de Curso), como requisito parcial à obtenção do grau de Bacharel em Ciências Biológicas da Universidade Federal da Paraíba.

Orientador(a): Felipe Wartchow

João Pessoa

2023

Catálogo na publicação
Seção de Catalogação e Classificação

S725c Sousa, Elfie Fernandes de.

Contribuições taxonômicas para o gênero *Cortinarius*
(Agaricaceae, Basidiomycota) da região amazônica /
Elfie Fernandes de Sousa. - João Pessoa, 2023.

33 p. : il.

Orientação: Felipe Wartchow.

TCC (Curso de Bacharelado em Ciências Biológicas) -
UFPB/CCEN.

1. Agaricales. 2. Basidiomicetos. 3. Taxonomia. 4.
Biologia. I. Wartchow, Felipe. II. Título.

UFPB/CCEN

CDU 57(043.2)

ELFIE FERNANDES DE SOUSA

**Contribuições taxonômicas para o gênero *Cortinarius* (Agaricaceae,
Basidiomycota) da região amazônica**

Monografia apresentada ao Curso de Ciências
Biológicas, como requisito parcial à obtenção
do grau de Bacharel em Ciências Biológicas da
Universidade Federal da Paraíba.

Aprovado em: 14/11/2023.

Banca Examinadora



Prof. Doutor Felipe Wartchow

Orientador

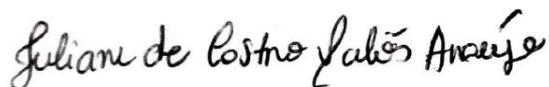
(UFPB/CCEN/DSE)



Mestre Erica de Souza Falcão

Avaliadora

(UFPB/CCEN/DSE)



Mestre Juliane de Castro Valões Araújo

Avaliadora

(UFPB/CCEN/DSE)

*Dedico essa monografia à minha avó
Antonia Fernandes, pois com todo o seu carinho
e afeto me ensinou a nunca desistir dos meus
objetivos. Te amo para sempre.*

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer primeiramente aos meus guias, minha mãe Yemanjá e a minha religião pois sem a umbanda sagrada não estaria aqui hoje.

Agradeço ao meu orientador Felipe Wartchow, por ser um exímio professor, pela amizade e por toda a orientação.

Agradeço a minha mãe Suerda Marcia de Sousa por sempre me incentivar, seu apoio foi imprescindível.

Agradeço a minha tia Hérica Fernandes por sempre me obrigar a continuar lutando pelos meus sonhos.

Agradeço ao meu marido Breno Gabriel Paulino Salles, que me apoiou em todos os momentos.

Agradeço a Luana Zapff e Khrebôs Rodrigues por fazerem parte da minha jornada acadêmica e pela amizade.

Agradeço a Nathalia Ferretti, Erica Falcão e Anderlechi Barbosa pela amizade, pelas diretrizes e por serem excelentes colegas de laboratório.

Agradeço por fim a toda equipe do LMTF e ao CNpq, a FAPESQ e a UFPB.

RESUMO

Os fungos da família Cortinariaceae e gênero *Cortinarius*, são conhecidos por formarem um véu em formato de cortina, apresentarem colorações variadas, esporos ornamentados e frequentemente estão associados a plantas, formando as micorrizas. O estudo da taxonomia e sistemática é de extrema relevância para a biologia, e nesse sentido a monografia aqui desenvolvida tem como objetivo a descrição de novas espécies do gênero *Cortinarius* e análise dos materiais no herbário JPB- Lauro Pires Xavier. Ademais analisar, descrever e realizar o levantamento bibliográfico do gênero. Os espécimes estudados foram coletados no município de Belterra na “Floresta Municipal do Tapajós” localizada no estado do Pará, Trilha da Comunidade Jamaraquá. Análises morfológicas (macroscópicas e microscópicas), comparação entre espécies brasileiras, referências teóricas e análises moleculares foram realizadas. A nova descoberta permite um maior conhecimento do gênero e da sua riqueza, assim como, da riqueza da região amazônica. Uma árvore filogenética, por meio do BLAST, foi construída a partir da comparação de sequências obtidas do Genbank com a sequência de ITS gerada na extração de DNA do (s) espécime (s) analisado. Os resultados obtidos mostram que o espécime de *Cortinarius* estudado estaria filogeneticamente posicionado próximo à seção Anomali. Diante do exposto, uma espécie é descrita como nova para a ciência, ampliando o conhecimento sobre o gênero *Cortinarius*, sua riqueza na região amazônica, e conseqüentemente, no Brasil. Entretanto, mais estudos acerca do grupo no Brasil são necessários para desvendar a sua taxonomia no País.

Palavras-chave: Agaricales. Basidiomicetos. Taxonomia.

ABSTRACT

The fungi of the Cortinariaceae family and *Cortinarius* genus are known for forming a curtain-shaped veil, with various colors, ornamented spores, and are often associated with plants, forming mycorrhizae. The study of taxonomy and systematic classification is of utmost importance to biology. In this context, the monograph developed here aims to describe new species within the *Cortinarius* genus and analyze materials in the JPB-Lauro Pires Xavier herbarium. Additionally, it aims to analyze, describe, and conduct a bibliographic survey of the genus. The specimens studied were collected in the municipality of Belterra in the "Municipal Forest of Tapajós" located in the state of Pará, specifically on the "Trilha da comunidade Jamaraquá". Morphological analyses (macroscopic and microscopic), comparisons between Brazilian species, theoretical references, and molecular analyses were performed. The newfound discovery contributes to a greater understanding of the genus and its diversity, as well as the richness of the Amazon region. A phylogenetic tree, constructed using BLAST, was built by comparing sequences obtained from Genbank with the ITS sequence generated during the DNA extraction of the analyzed specimen(s). The results indicate that the studied *Cortinarius* specimen is phylogenetically positioned close to the Anomali section. In light of the above, a species is described as new to science, expanding knowledge about the *Cortinarius* genus, its richness in the Amazon region, and consequently, in Brazil. However, further studies on the group in Brazil are necessary to unravel its taxonomy in the country.

Keywords: Agaricales. Basidiomycetes. Taxonomy.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Mapa FLONA de Tapajós.....	4
Figura 2– A- Fotografia do material DLK1988; B- Fotografia do material DLK1989.....	5
Figura 3 – Cortina remanescente de coloração ferrugínea.....	8
Figura 4 – Fotografia do material. A- Cortina ferrugínea em formato de teia de aranha; B- Espécime mais velha; C- Espécime jovem.....	9
Figura 5 – A- Fotografia dos esporos em escala de 20 μm ; B- Fotografia das hifas infladas da trama da lamela em escala 20 μm ; C- Fotografia dos grampos de conexão em escala de 20 μm	11
Figura 6 – Desenho em linha: A- esporos; B- queilocístidio; C- basídios. Escala:10 μm	12
Figura 7 – A- basídios com 2 esterigmas; B- basídios com 4 esterigmas. Escala 20 μm	13
Figura 8. A- Desenho de basídios em escala de 10 μm ; B- Desenho de esporos em escala 2 μm .	
Figura 9 – Árvore filogenética do BLAST.....	14

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	1
2 OBJETIVOS	3
2.1 OBJETIVO GERAL	3
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	3
3 MATERIAL E MÉTODOS	4
3.1 ÁREA DE ESTUDO	4
3.2 COLETAS.....	5
3.3 ANÁLISE MORFOLÓGICA	6
3.4 ANÁLISE MOLECULAR E FILOGENÉTICA.....	7
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	7
4.1 MACROSCOPIA.....	7
4.2 MICROSCOPIA.....	10
4.3 ANÁLISES FILOGÉNETICAS.....	13
4.4 DISCUSSÃO.....	15
5 CONCLUSÃO	18
6 REFERÊNCIAS	18

1 INTRODUÇÃO

Os fungos de basidioma agaricoide são conhecidos vulgarmente como “cogumelos”, são pertencentes à ordem Agaricales, e tradicionalmente distribuídas em 16 famílias (Singer 1986). Com os estudos filogenéticos de Matheny et al. (2006), o grupo foi distribuído em seis clados: plicaturopsidoide, pluteoide, higroforoide, marasmioide, tricholomatoide, agaricoide. Eles são importantes agentes decompositores da natureza, e estima-se que há um total de 150.000 espécies descritas de fungos, contudo ocorre uma probabilidade de existir cerca de 2,5 milhões espécies de fungos, entretanto, isso denota que menos de 10% das espécies foram descritas até os dias de hoje (Niskanen *et al* 2023). Todavia, grande parte das espécies ainda são desconhecidas, possivelmente por habitarem biomas pouco estudados do ponto de vista taxonômico, fato que acontece principalmente nas regiões tropicais (Putzke 1994).

O gênero *Cortinarius* Fr. é um gênero de fungos ectomicorrízicos (ECM) que inclui cerca de 2.250 táxons conhecidos (He *et al.* 2019; Liimatainen *et al.* 2022), sendo considerado o maior gênero de Agaricales em número de espécies. O conceito tradicional inclui a presença de véu cortinoide, cor enferrujada ou impressão de basidiósporos enferrujados alaranjados e com ornamentação exosporial (Singer 1986).

Contudo, a classificação preliminar não contemplava a diversidade desse gênero. Com o decorrer dos anos Singer (1986) classificou o gênero *Cortinarius* na família Cortinariaceae, tribo Cortinariae Fayod, juntamente com as demais tribos Inocybeae Fayod ex Singer ex Kühner. As classificações do grupo ao longo de vários estudos filogenéticos se mostraram inconclusivas até o momento, devido à complexidade e abundância de espécies. Na obra “Taming the beast: a revised classification of Cortinariaceae based on genomic data” de Liimatainen et al. (2022) foi proposta uma nova classificação filogenética baseada em dados genômicos, separando assim a família Cortinariaceae em 10 gêneros, sendo estes: *Cortinarius*, *Phlegmacium* Fr., *Thaxterogaster* Singer, *Calonarius* Niskanen & Liimat., *Aureonarius* Niskanen & Liimat., *Cystinarius* Niskanen & Liimat., *Volvanarius* Niskanen & Liimat., *Hygronarius* Niskanen & Liimat., *Mystinarius* Niskanen & Liimat. e *Austrocortinarius* Niskanen & Liimat. Essa nova classificação proporcionou maior entendimento acerca dessa grande família, como resultado o grupo *Cortinarius* foi filogeneticamente fortemente suportado com 95% (Liimatainen *et al.* 2022).

O objetivo da pesquisa foi estudar espécimes do gênero *Cortinarius*. As características do grupo consistem em, principalmente, seu véu diferenciado com formato de cortina, característica que nomeia o gênero; ornamentação exosporial e esporada com coloração

ferrugem ou laranja-ferrugem. A espécie apresenta muitas variações de hábito, cor, microscopia e distribuição geográfica. Esses organismos podem ser encontrados no solo próximo a bosques, terra, grama e folhagem (Singer 1986).

Uma outra característica marcante do grupo é a formação ectomicorrizas com muitas plantas. *Cortinarius* está frequentemente associado à plantas vasculares como Fagales, Pinaceae, Aicales, Tiliaceae, Caesalpinaceae, Rhamnaceae e Myrtaceae (Singer 1986). As micorrizas são associações entre plantas e fungos que estabelecem uma relação de simbiose, na qual há benefícios para ambos os organismos. Essa associação permite que as plantas obtenham mais nutrientes e benefícios diversos como maior crescimento radicular, maior diversidade de plantas, controle da erosão e outros. O conhecimento mais aprofundado da taxonomia dos organismos desse gênero é de grande importância para a preservação da biodiversidade, assim como, o estudo da associação mutualística entre plantas e fungos pode auxiliar na manutenção de florestas (Faria *et al.* 2017).

Os representantes de *Cortinarius* são encontrados constantemente em regiões tropicais, subtropicais e temperadas, bem como na Ásia, Europa, América do Norte e alguns locais do hemisfério sul (Singer 1986). A nova espécie foi coletada na floresta amazônica, região que sofre constantemente impactos ambientais e humanos, principalmente desmatamento, extração ilegal de madeira, queimadas ilegais, entre outros. Esses impactos levam à perda de biodiversidade, erosão do solo, perda de funções florestais e diversos maléfícios ambientais (Fearnside 2003). Tornando assim o objeto de estudo importante para uma maior compreensão da biodiversidade e conservação da localidade de coleta.

Como agravante, o desmatamento na Amazônia brasileira tem aumentado ao longo dos anos, tornando a situação crítica para a região e, conseqüentemente, a biodiversidade é afetada drasticamente (Coelho-Junior *et al.* 2022), incluindo as espécies de fungos que formam associações com plantas.

Considerado o maior gênero de Agaricales, no Brasil há apenas 5 espécies conhecidas descritas como *Cortinarius*: *C. amazonicus* Singer & I.J.A. Aguiar, *C. campinaranae* Singer & I.J.A. Aguiar, *C. galeriniformis* Singer & I.J.A. Aguiar, *C. kerrii* Singer & I.J.A. Aguiar e *C. umbilicatus* Singer & I.J.A. Aguiar (Singer *et al.* 1983). Nos estudos do gênero, as espécies são coletadas na Floresta Amazônica do estado do Pará, norte do Brasil, descritas como novas devido às diferenças na morfologia, características microscópicas e macroscópicas, assim como diferenças genéticas.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

A presente monografia tem como objetivo compreender a riqueza, diversidade, taxonomia e sistemática dos fungos Agaricales, com ênfase nos organismos do gênero *Cortinarius*.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

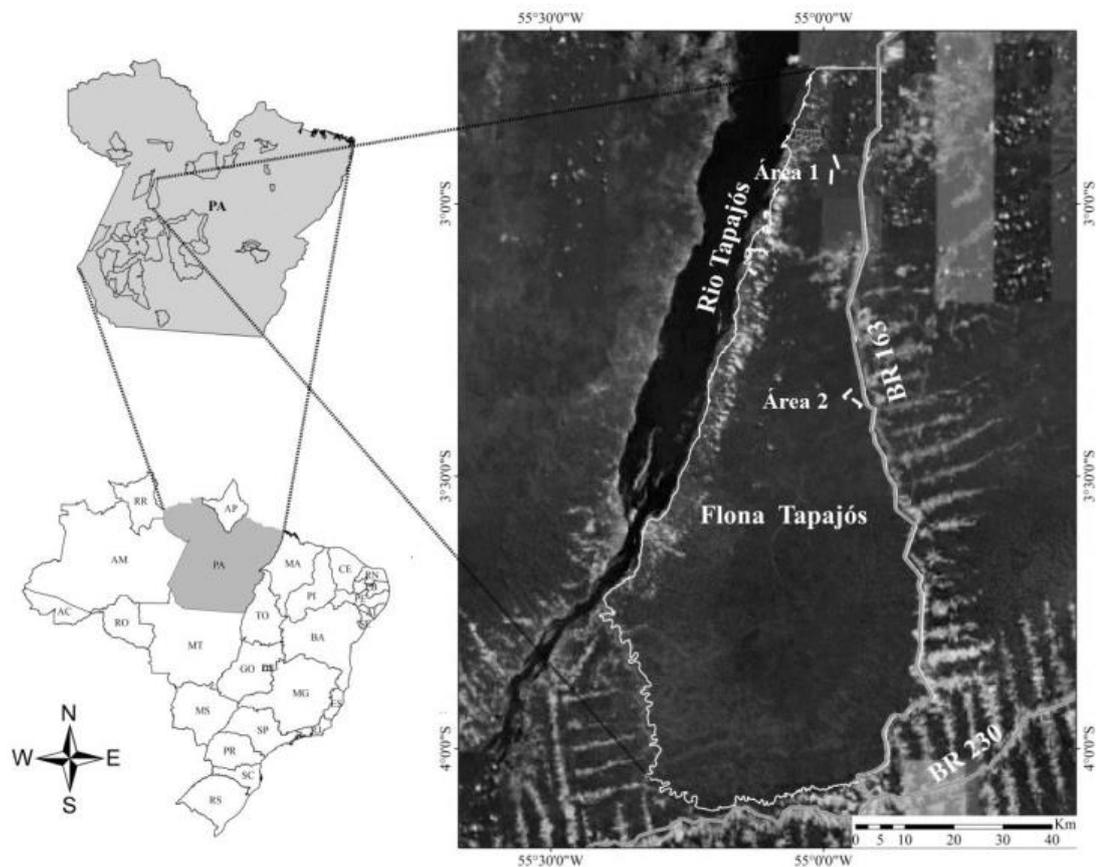
- Realizar um levantamento bibliográfico acerca do gênero *Cortinarius* no Brasil e no mundo
- Analisar materiais do gênero *Cortinarius* depositados no herbário Lauro Pires Xavier - JPB
- Descrever novas espécies de fungos *Cortinarius*
- Comparar novas espécies de fungos *Cortinarius*

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 ÁREA DE ESTUDO

A nova espécie foi coletada no município de Belterra na “Floresta Municipal do Tapajós” localizada no estado do Pará ($2^{\circ}48'60''$ S e $55^{\circ}01'76''$ W), Trilha da Comunidade Jamaraquá (Figura 1), área do bioma Amazônia, que ocupa 40% da área território nacional e abrange nove estados brasileiros, ocupando uma área de 4.196.943 milhões de Km² (IBAMA, 1998). A Floresta Municipal do Tapajós (FLONA tapajós) é uma Unidade de Conservação (UC) Federal da Amazônia, criada pelo Decreto nº 73.684 de 19 de fevereiro de 1974, de área com cerca de 530 mil hectares, envolvendo diversos municípios do estado do Pará, incluindo o município de estudo, Belterra (IBAMA 2004).

Figura 1. Mapa FLONA de Tapajós.



Fonte: SANTOS et al. 2018

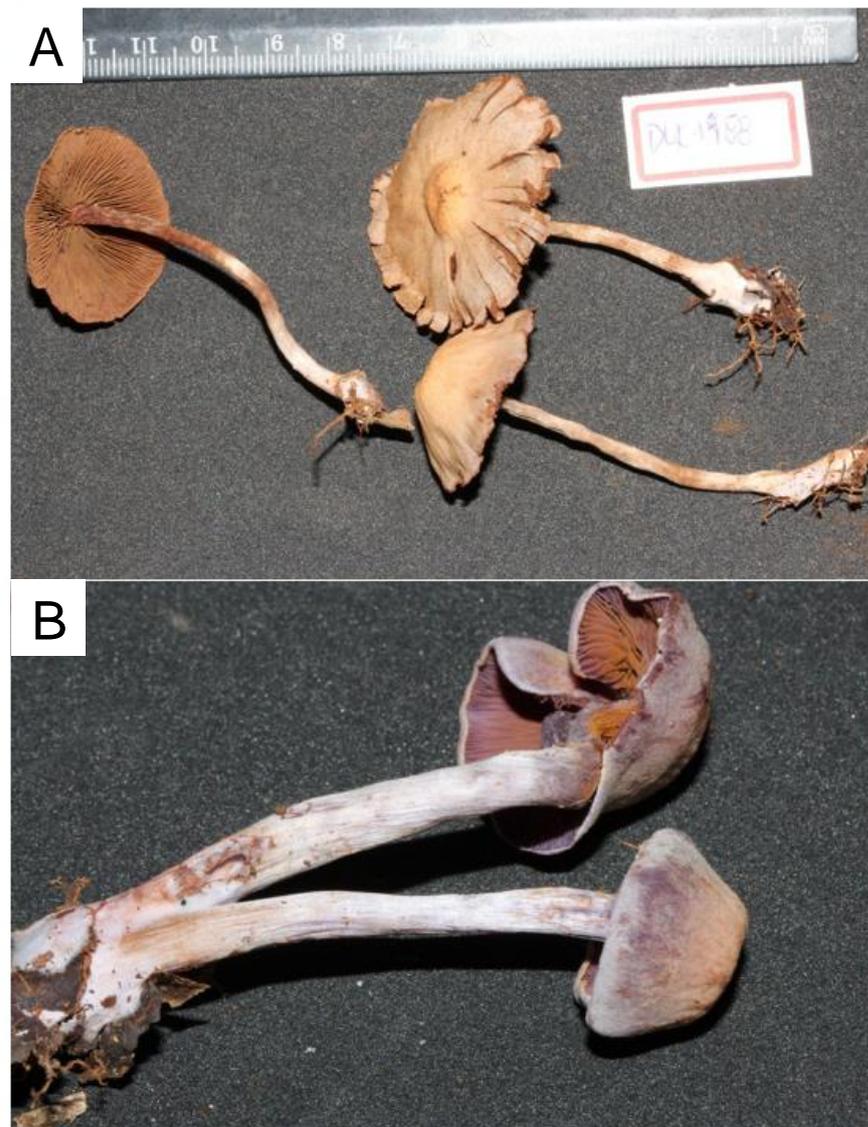
A Floresta Nacional do Tapajós encontra-se na região de Floresta Ombrófila Densa, tipo de vegetação dominante no estado do Pará. A zona é marcada pela presença de árvores de grande porte, com altas temperaturas e altos índices de precipitação ao longo do ano. Os gêneros de planta predominantes são: *Hevea*, *Bertholletia* e *Dinizia*, lianas lenhosas, palmeiras e epífitas (IBAMA e MMA 2004)

3.2 COLETAS

Os métodos realizados para a preservação do organismo coletado são baseados em Pereira & Putzke (1989): os basidiomas foram coletados de forma a preservar a base do estipe para posterior avaliação das características morfológicas, que normalmente perdem-se durante a secagem da amostra. Os basidiomas foram depositados em sacos de papel individuais, para que os basidiósporos entre as espécies não se misturem.

Foram coletados dois materiais correspondentes a DLK 1988 e DLK 1989, os quais inicialmente pareciam ser espécies distintas (Figura 2. A e B).

Figura 2. A- Fotografia do material DLK1988; B- Fotografia do material DLK1989



Fonte: Komura, D.L.

3.3 ANÁLISE MORFOLÓGICA

A primeira etapa efetuada na análise morfológica dos espécimes é a análise das estruturas macroscópicas na amostra ainda fresca, e por diante a descrição das estruturas em uma ficha técnica para identificação da espécie do fungo. As características descritas na ficha são: píleo, estipe, lamelas, micélio, assim como a coloração, o tamanho e o odor dessas estruturas. Em seguida, o material é distribuído no desidratador de alimentos até 40°C. Quando desidratados, são dispostos em sacos plásticos com fecho contendo sílica em gel não tóxica.

A segunda etapa é a análise das estruturas microscópicas, foram observadas as seguintes estruturas: pileipelis, trama lamelar, basídios, basidiosporos, cistídios, presença ou ausência de grampos-de-conexão, contexto, hifas assim como a coloração e a medição das estruturas. Os materiais utilizados durante as análises microscópicas foram lâminas, lamínulas, luvas, reagentes, pinça e microscópio óptico. Foram realizados cortes à mão livre do material desidratado e preparadas diferentes lâminas para a observação de microestruturas: KOH 3% para reidratar o material e observação da cor natural das estruturas e corante vermelho Congo para a melhor visualização das microestruturas. Seguidamente realizou-se testes com o uso de reagentes como o Melzer, KOH, NH₄OH a 10%, azul de Cresil, esse processo é necessário para observar se ocorre reação de coloração no material, importante para a sua identificação.

Para a revisão bibliográfica foi realizado uma varredura de artigos publicados desde 1896 a 2023, acerca do gênero, principalmente de pesquisadores especialistas no grupo como Liimatainen, Niskanen e Dima. Alguns dados de Singer 1986 foram utilizados, bem como a pesquisa na plataforma acadêmica do google com as seguintes palavras chaves: *Cortinarius* e *Cortinariaceae*.

Para obter a identificação da espécie, foi utilizada a chave de identificação de Putzke, Jair (2019) e Singer (1986). Os códigos de coloração foram baseados em “Online Auction Color (2004)”. A descrição dos basidiósporos segue a metodologia proposta por Tulloss et al. (1992), com adaptações. As medições e estatísticas são baseadas em 30 basidiósporos. As abreviaturas incluem L (comprimento) e W (largura) = comprimento médio dos basidiósporos (largura), Q = razão entre o comprimento e a largura conforme determinado a partir de todos os basidiósporos medidos e Qm = o valor Q médio de todos os basidiósporos medidos. O epíteto foi baseado em dicionários de latim/grego (Rizzini 1955, Borror 1960). (Thiers, continuamente atualizado).

3.4 ANÁLISE MOLECULAR E FILOGENÉTICA

3.4.1 Extração de DNA, PCR e Sequenciamento

O DNA do material foi extraído por meio de um corte no espécime, com materiais previamente esterilizados, o método foi baseado nos FTA cards, onde: as células de tecido do espécime foi aplicado em cartões FTA a uma concentração de >100 células/ μ l para análise de DNA e >1000 células/ μ l para análise de RNA em meio de cultura, tripsina ou tampão PBS. Aproximadamente 65 μ l de amostra preencherão um círculo impresso de 1 polegada em um

cartão FTA. Posteriormente a amostras aplicadas no cartão são armazenadas em temperatura ambiente, permitindo sua secagem por 1 hora, por fim a amostra é processada e usada como modelo para amplificação por PCR. Gerando, por fim, a sequência de ITS.

3.4.2 Alinhamento e análise filogenética

Para realizar o alinhamento a sequência ITS gerada foi comparada com os materiais genéticos existentes no o banco de dados (BLAST), utilizamos o Basic Local Alignment Search Tool (BLAST). Por fim, foi gerado uma árvore filogenética de aproximação.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após a realização de todas as análises macroscópicas, microscópicas e genéticas foi possível concluir que a amostra pertence ao gênero *Cortinarius* devido a diversas características presentes no material estudado, bem como é referente a uma nova espécie brasileira do gênero. Consideramos aqui, por meio de dados macroscópicos, microscópicos e moleculares o material DLK 1988 como nova para a ciência. O material DLK 1989 aparenta ser da mesma espécie da espécime DLK 1988.

4.1 Macroscopia

Os seguintes resultados foram obtidos após a observação das estruturas macroscópicas:

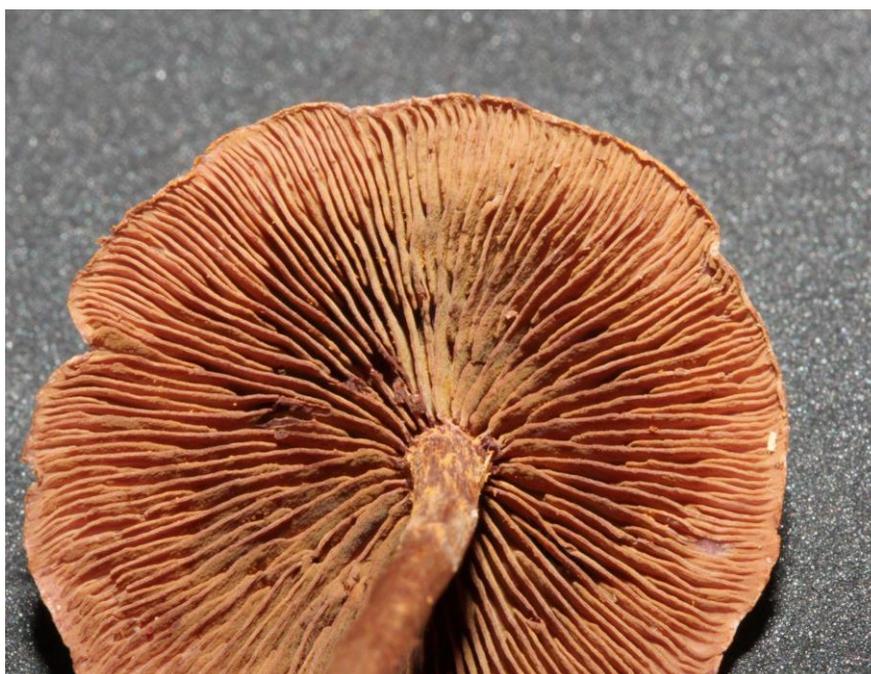
Cortinarius neopallescens Fernandes. S. E & Wartchow, nom. prov.

Material examinado: Brasil, Pará, Belterra, FLONA de Tapajós, Trilha da Comunidade Jamaraquá, 2°48'60" S e 55°01'76", 31 de março de 2014, D.L. Komura **DLK 1988**. Depositado no herbário JPB.

Etimologia do 'neo' (= novo) e 'pallescens' (=pálido/esbranquiçado). Devido a perda de coloração conforme o amadurecimento.

Píleo 32–43 mm convexo, para amplamente convexo com um umbo achatado e umbilicado; cor pálida para amarelo pálida (OAC815; OAC857). Margem fibrosa, rimoso/lacerada e erodida de coloração levemente lilás (OAC445). O tipo da lamela é adnata, regular até ferruginosa quando madura (Figura 3), lamellula 1, com um forte remanescente e ferruginoso véu (OAC754; OAC755). Estipe 56–75 × 3–5 mm (7–8 mm no bulbo), central e cilíndrico com bulbo e base micelial; fibriloso; de coloração pálida na base (OAC909); escuro perto do ápice; véu corticoide e ferruginoso (OAC754, OAC755).

Figura 3. Cortina remanescente de coloração ferrugínea.



Fonte: Komura, D.L.

Os seguintes resultados foram obtidos da descrição do *Cortinarius* sp. (DLK 1989:

Material examinado: Brasil, Pará, Belterra, FLONA de Tapajós, Trilha da Comunidade Jamaraquá, 2°48'60"S e 55°01'76", 31 de março de 2014, D.L. Komura DLK 1989 (JPB 65663).

Píleo quando jovem de tamanho 6–18 mm subgloboso para hemisférico plano, quando adulto mede (18-)25–50 mm de diâmetro, umbonado levemente depresso, superfície do píleo de coloração lilás acinzentado (variando de OAC428; OAC430) e levemente alaranjada-ferruginosa (variando de OAC673; OAC680) próximo a região umbonada. Margem ondulada de coloração lilás esbranquiçada (variando de OAC557; OAC438) quando jovem largamente

cônico, umbonado levemente depresso coloração roxa claro (variando de OAC434; OAC435) e margem lilás esbranquiçada (OAC445), margem plana, superfície do píleo, o tipo da lamela é sinuada, concolor, coloração lilás (entre OAC443; OAC442) base bulbosa esbranquiçada (variando de OAC445; OAC909) Estipe de tamanho 50–55 mm, fibriloso, coloração variando de lilás (OAC445) para lilás esbranquiçado (variando de OAC445; OAC909) e véu em formato de cortina similar a teia de aranha, de coloração ferruginosa (OAC762) (Figura 4).

Figura 4. Fotografia do material. A- Cortina ferrugínea em formato de teia de aranha; B- Espécime mais velha; C- Espécime jovem.



Fonte: Komura, D.L.

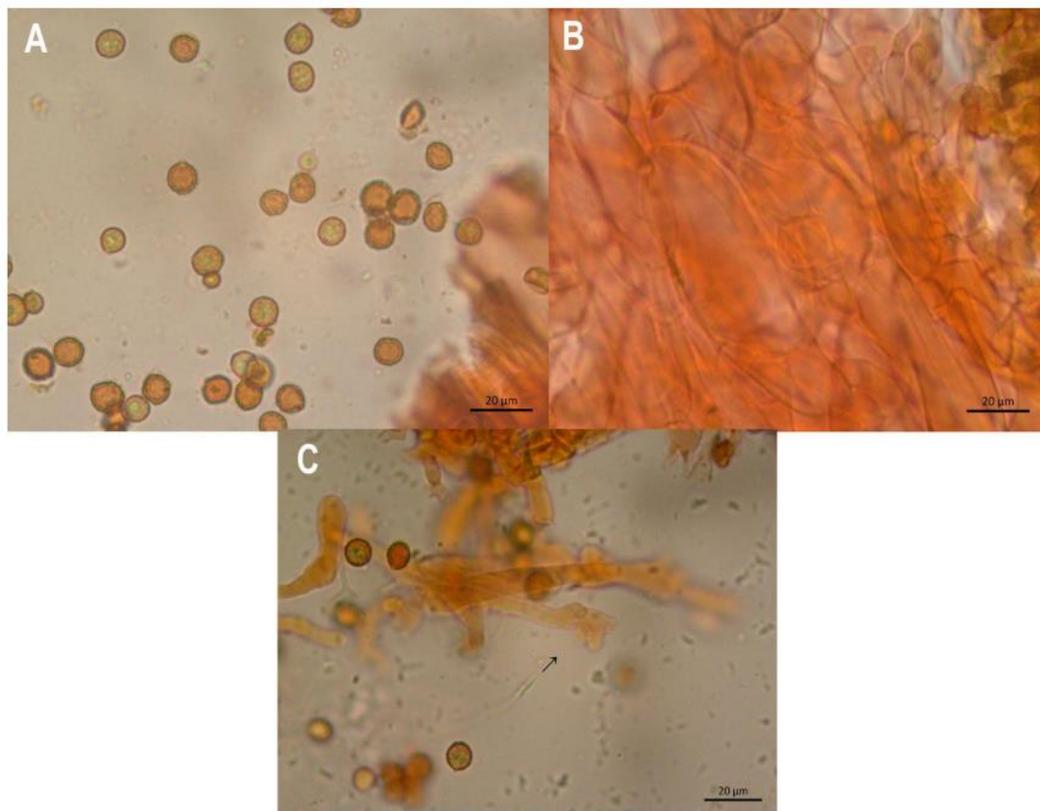
4.2 Microscopia

Cortinarius neopallescens Fernandes. S & Wartchow. F nom. prov. (DLK1988)

Basidiosporos $5.6-6.6 \times (4-) 5-5.6 (-6.6) \mu\text{m}$, $Q= 1.00-1.19 (1.30)$, $Q_m= 1.12$, formato subgloboso a elipsóide, inamiloide, marrom amarelado no KOH 3%, com ornamentação exosporial de formato levemente verrucoso a espinhoso e com hilo lateral (Figura 5-A). O tamanho do basídio é entre $(23-) 25.5-36.7 (-48) \times (5-) 6.6-7.6 (-9)$, clavado, com 4 esterigmas (Figura 7-B) raramente com 2 (Figura 7-A). Pleurocístidia ausente. A borda da lamela é heterogênea, misturada com poucos queilocistídios. Os queilocistídios são bem ocasionais, clavado e mucronado incolor, de parede fina (Figura.6-A). A trama da lamela apresenta um formato regular/paralela, com hifas infladas (Figura 5-B), composta por hifas de tamanho $50 \mu\text{m}$; incolor em KOH 3%. A pileipelis do tipo cutis, pequena e fina, difícil de observar no microscópio, com hifas finas e prostrada. Os grampos de conexões foram observados em todos os tecidos examinados (Figura 5-C). A estipetipelis não apresenta cistídio, inamiloide e hifas com parede fina, sem pigmentos incrustados.

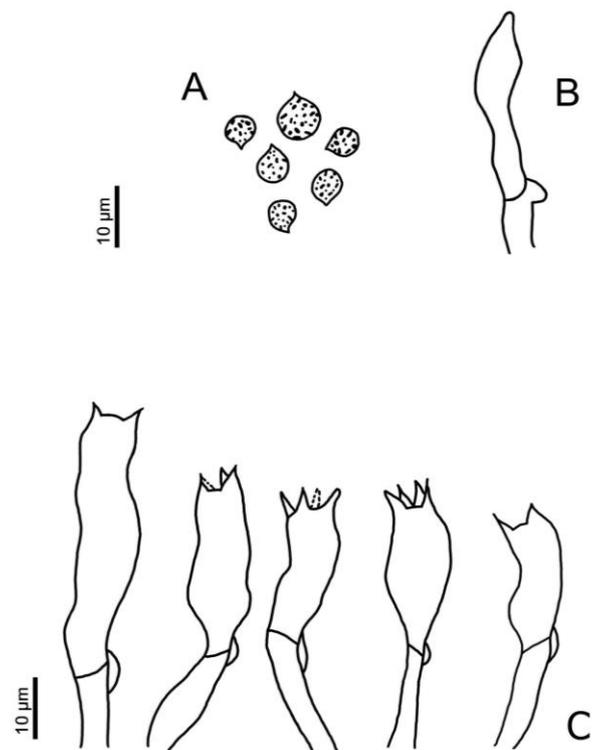
Figura 5. A- esporos; B- hifas infladas da trama da lamela; C- grampos de conexão.

Escala: $20 \mu\text{m}$.



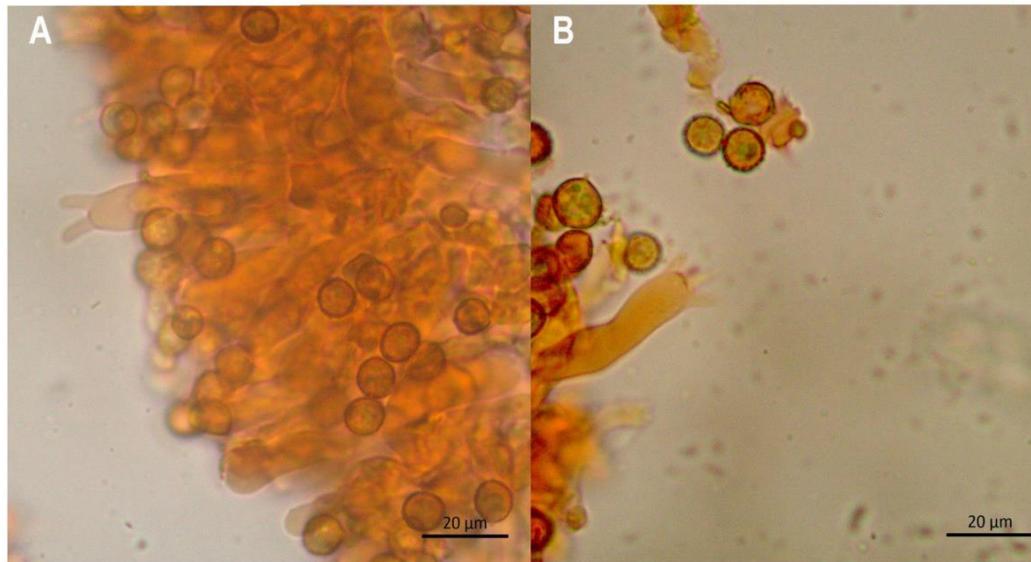
Fonte: Fernandes. S e Wartchow. F

Figura 6. Desenhos em linha: A- esporos; B- queilocístidio; C- basídio. Escala: 10 μ m.



Fonte: Fernandes. S e Wartchow. F

Figura 7. A- basídios com 2 esterigmas; B- basídios com 4 esterigmas. Escala 20 μm .

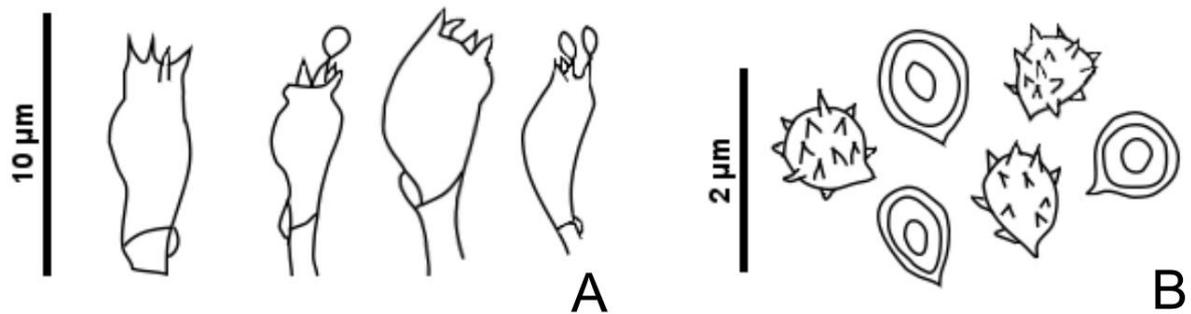


Fonte: Fernandes. S e Wartchow. F

Cortinarius sp. (DLK1989)

Basidioporos $5.5-6 \times 4.5-5.5(-6) \mu\text{m}$, $L = 6.1 \mu\text{m}$, $W = 5.3 \mu\text{m}$, $Q = (1-)1.1-2.3$, $Q_m = 1,16 \mu\text{m}$; formato subgloboso a elipsoide, inamiloide marrom-amarelado em KOH 3%, com ornamentação exosporial, de formato espinhoso e hilo lateral (Figura 8-B). Basídio medindo $22.5-35 (-17) \times 5-8(-9.5) \mu\text{m}$, clavado, com 4 esterigmas, sem coloração e com parede fina (Figura 8- A). Lamela sem queilocistídios e pleurocistídio, com uma quantidade abundante de esporos. A trama da lamela apresenta um formato paralelo com hifas hialinas com o tamanho $5 \mu\text{m}$ de largura, com poucas variações; hifas com paredes finas e levemente entrelaçadas, incolor em KOH 3 %, inamiloides. O contexto do píleo composto por algumas hifas com paredes finas, entrelaçadas, infladas, pseudoparenquimatoso e incolor em KOH 3%, inamiloide. A Pileipellis é do tipo paliçada tricolor com elementos dispostos de forma anticlinal, parede fina. Os grampos de conexões foram observados em todos os tecidos examinados. Estipetipellis sem cistídio, inamiloide e hifas com parede fina, sem pigmentos encrustados.

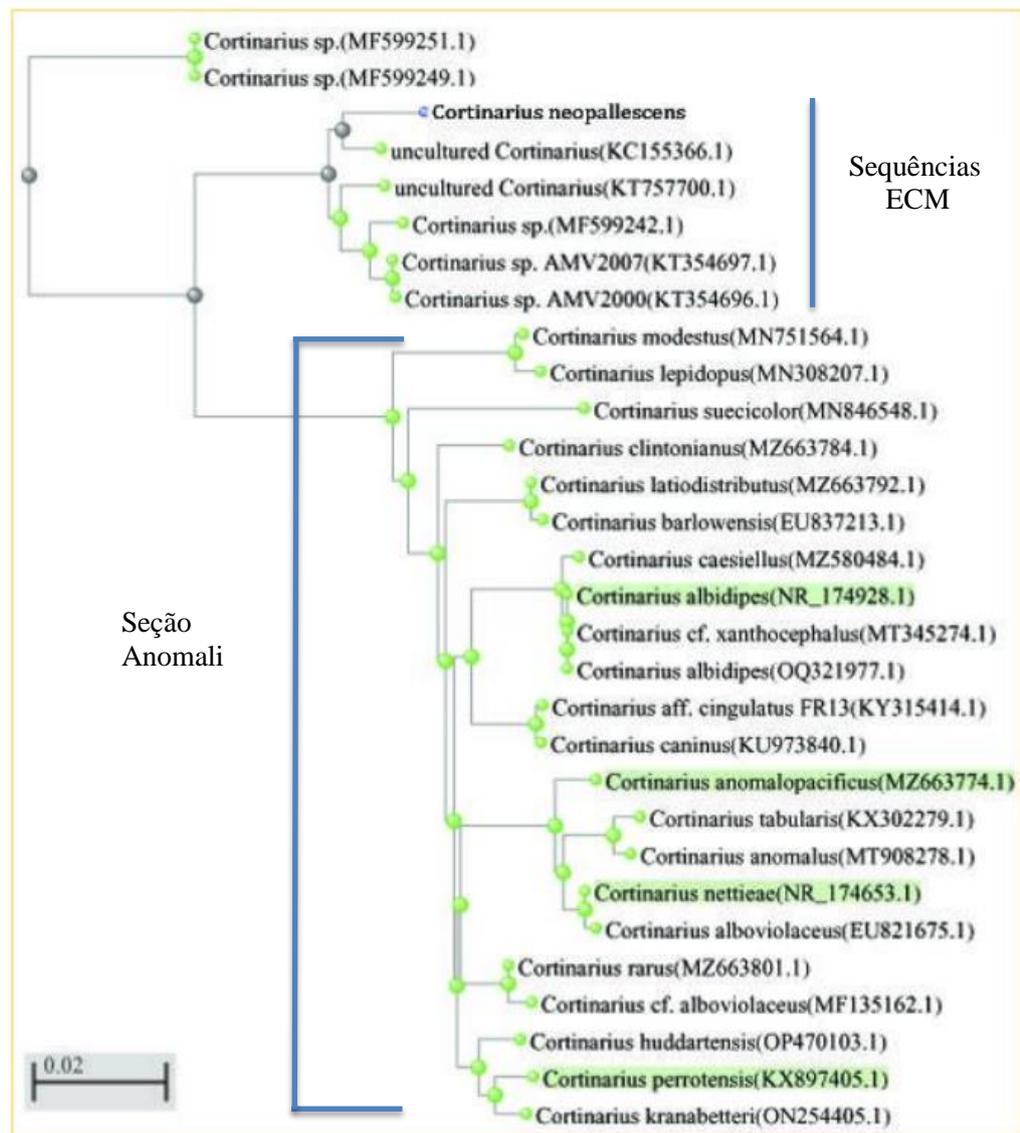
Figura 8. A- Desenho de basídios em escala de 10 μm ; B- Desenho de esporos em escala 2 μm .



4.3 Análises filogenéticas

Nos resultados moleculares o primeiro ramo (KC155366.1) com proximidade filogenética de 97,56%, considerado bem suportado com sequências obtidas da raiz de ECM de *Pakaraimaea dipterocarpacea* Maguire & P.S. Ashton (Smith *et al.* 2013). Um outro ramo possui uma sequência não publicada de raiz de *Pseudomonotes tropenbosii* A.C. Londoño, E. Alvarez D. & Forero (KT757700.1), e três de basidiomas da Guiana (hospedeiros desconhecidos) e Colômbia (KT354697.1), associadas a árvores de *Dicymbe uaiparuensis* R.S. Cowan (Figura 8).

Figura 9. Árvore filogenética do BLAST.



Fonte: Basic Local Alignment Search Tool (BLAST)

4.4 Discussão

Quando avaliado apenas a macroscopia é possível notar que os espécimes coletados se tratam de espécies diferentes, devido a coloração, formato, tamanho das estruturas, entretanto, observando mais profundamente as características microscópicas são bastante similares e ocorrem poucas variações quanto ao tamanho, tipo de estrutura e coloração. Quando avaliando cuidadosamente nota-se que houve uma perda de coloração no material de DLK 1988 e ele

aparenta estar mais maduro confirmado pela diferença no véu entre *C. neopallencis* nom. prov. e DLK 1989 (Figura 2-B). Entretanto, apenas essa característica não é suficiente para definir que ambos pertencem à mesma espécie.

Tabela 1. Comparação entre os dois espécimes coletados (DLK1988 e DLK1989).

Taxon	Píleo	Estipe	Véu	Basidiósporos	Pleurocistídio Queilocistídio
<i>Cortinarius neopallencis</i> nom. prov.	32–43 mm convexo	56–75 × 3–5 mm central, textura fibrosa	Ferruginoso, remanescente	5.6–6.6 × (4–) 5.5(– 6) µm, subgloboso	Queilocistidio presente
<i>Cortinarius</i> sp. (DLK 1989)	Jovem: 6–18 mm subgloboso. Maduro: (18–)25–50 mm, umbonado	50–55 mm, textura fibrosa	Ferruginoso, teia de aranha	5.5–6 × 4.5– 6) µm, subgloboso	Aparentemente ausente

Cortinarius neopallencis nom. prov. é uma espécie facilmente reconhecida pelo píleo pálido (violeta-amarelo pálido, mas quase branco) quando maduro, ápice do estipe roxo acinzentado, com esporos principalmente sub-globosos, forte véu remanescente de cor laranja-enferrujado e ausência de pleurocistídios, com alguns raros queilocistídios.

Na região da Amazônia brasileira, Singer et al. (1983) descreve *C. campinaranae*, *C. galeriniformis* e *C. umbilicatus*. no entorno de Manaus, estado da Amazônia. Eles foram tratados como pertencentes ao subgênero *Telamonia* (Fr.) originalmente por conta da aparente falta de cor roxa nos basidiomas. Nos holótipo de *C. neopallencis* nom. prov. (DLK 1988), também notamos a escassez de pigmentos roxo/lilás, mas observando a margem do píleo e principalmente o ápice do estipe, notamos algumas sombras de lilás e roxo. Singer et al. (1983) também notou isso em *C. galeriniformis*. Entretanto, não temos certeza se esses três realmente

carecem de pigmento roxo. Nós podemos supor que essas três espécies também eram inicialmente roxas, e Singer et al. (1983) analisou apenas espécimes maduros.

Cortinarius campinaranae denotam de esporos com tamanho de 6 – 6,5 (- 8) x 5,7 – 6 (- 7,5) μm , e também ficam com coloração marrom em KOH, os basídios a maioria é tretasporado, mas alguns são bi- ou trisporados, queilocistídio presente. Mesmo com características bastante similares, o píleo de *C. campinaranae* é bastante pequeno, com até 11 mm de diâmetro, quando comparado com *C. neopallescens* nom. prov., com píleo de 32–43 mm. O véu de *C. campinaranae* é sedoso e branco, diferentemente do espécime estudado, é laranja ferruginoso e remanescente. Mesmo com características bastante similares, o tamanho e outras características macroscópicas demonstram que o espécime estudado e *C. campinaranae* não são a mesma espécie.

Para a espécie *C. galeriniformis* uma característica que a define é o seu formato largamente cônico convexo, obtuso papilado e a coloração do píleo branco, liso, medindo até 20 mm de diâmetro, com véu sedoso. A coloração do estipe é violeta acinzentada e de cortina também violeta acinzentada. A nova espécie estudada tem píleo de tamanho 32–43 mm de formato convexo, para amplamente convexo com um umbo achatado e umbilicado; cor pálida para amarelo pálida (OAC815; OAC857) e a cortina é ferruginosa, demonstrando assim também não corresponder à essa espécie.

Cortinarius umbilicatus apresenta um píleo com 30 mm de diâmetro, convexo, umbilicado, glabro, a coloração é marrom escura a claro, similar ao espécime analisado. A sua cortina é pálida, diferentemente de *C. neopallescens* nom. prov., a qual é ferruginosa. Em *C. umbilicatus* os queilocistídios estão ausentes diferentemente da nova espécie. Mesmo com características similares, as espécies diferem em coloração, tamanho e presença e ausência de determinadas estruturas, assim como na coloração da cortina, fazendo assim com que não possam ser consideradas a mesma espécie.

Nas análises genéticas o nosso material (DLK1988) foi identificada como próxima de extratos de raiz de planta ECM de *Pakaraimaea diptero-carpacea* (KC155366.1). O resultado molecular confirma como uma nova espécie para o Brasil, bem com esse clado neotropical aparenta ser irmão das sequências pertencentes a seção Anomali Konrad & Maubl. Essa seção foi recentemente bem estudada por Liimatainen et al. (2021), 14 espécies norte americanas da seção foram analisadas. No geral a seção Anomali corresponde a um grupo monofilético, contendo espécies com hábitos telamonioides e sericeociboide, com lamelas tipicamente azuladas quando jovem, coloração violeta ou azulada, esporos sub-globosos para levemente

elipsóides e verrucosos, no estipe o véu pode ser amarelado, amarronzado ou ocre, quando maduro o pigmento violeta vai sumindo do píleo, especialmente em ambientes secos.

O gênero estudado é grande, com elevado número de espécies e diferentes características, mesmo com essa riqueza, no Brasil há apenas 5 espécies, todas encontradas nas regiões de floresta tropical amazônica, indicando a possibilidade de que o gênero costuma tolerar melhor esses habitats, entretanto mais estudos são necessários. Por meio de comparações morfológicas, é possível notar que *Cortinarius neopallescens* nom. prov. não se assemelha a nenhuma espécie conhecida até então no Brasil. Entretanto, quando analisados os dados moleculares podemos notar que há uma relação com a seção Norte Americana bastante estudada, seção Anomali, todavia mais materiais precisam ser coletados e analisados filogeneticamente para que essa relação seja melhor entendida.

Após todos os dados aqui apresentados entende-se que *Cortinarius neopallescens* corresponde a uma nova espécie da família Cortinariaceae, gênero *Cortinarius*, com uma provável relação com a seção Anomali, devido a presença de véu corticoide, esporos ornamentados, esporada de coloração ferruginosa, formação de micorrizas, dados moleculares e a possível perda de coloração com o decorrer do amadurecimento.

5 CONCLUSÃO Reescreva a conclusão conforme os objetivos geral e específico.

Em conclusão, após análise dos materiais dispostos no herbário, foi possível obter uma nova espécie do gênero *Cortinarius*, o *Cortinarius neopallescens* nom. prov.. Por meio dessa descoberta a riqueza, diversidade, taxonomia e sistemática dos cogumelos Agaricales, principalmente os organismos do gênero *Cortinarius*, foram ampliadas, contribuindo para um maior conhecimento da biodiversidade desses fungos no Brasil e na região da Amazônia. Por meio dos dados aqui apresentados, notamos a necessidade de mais estudos acerca do gênero, pois com mais estudos podemos alcançar maiores esclarecimentos acerca da taxonomia, dos dados moleculares e possíveis novas seções dentro do grupo no Brasil. Por fim, observamos que mesmo que macroscopicamente a DLK1988 e DLK1989 aparentam ser diferentes, ambas foram coletadas na mesma localidade, bem como estão em estágios de amadurecimento diferentes, mas apenas as características macroscópicas não são o suficiente para classificá-las como a mesma espécie. Contudo, o material DLK1989 necessita de extração molecular para confirmar a proximidade com o material DLK1988.

REFERÊNCIAS

BORROR, Donald Joyce et al. Dictionary of word roots and combining forms. Compiled from the Greek, Latin, and other languages, with special reference to biological terms and scientific names. **Dictionary of word roots and combining forms. Compiled from the Greek, Latin, and other languages, with special reference to biological terms and scientific names**, 1960.

COELHO-JUNIOR, Marcondes G. et al. Unmasking the impunity of illegal deforestation in the Brazilian Amazon: A call for enforcement and accountability. **Environmental Research Letters**, v. 17, n. 4, p. 041001, 2022.

DE SOUZA, Anderson Marcos et al. Caracterização morfológica e isoenzimática de isolados de *Pisolithus* spp. **Cerne**, v. 7, n. 2, p. 22-35, 2001.

FARIA, Alvaro Boson de Castro et al. Uso de ectomicorrizas na biorremediação florestal. **Ciência Florestal**, v. 27, p. 21-29, 2017.

FEARNSIDE, Philip M. Conservation policy in Brazilian Amazonia: understanding the dilemmas. **World development**, v. 31, n. 5, p. 757-779, 2003.

FRIES, E. *Ut Cortinariées*, nom. nud. **Bull. Soc. Bol.** v. 23, p. 51, 1876.

FRIES, Elias Magnus. **Systema mycologicum: sistens fungorum ordines, genera et species, huc usque cognitae, quas ad normam methodi naturalis determinavit**. Sumtibus Ernesti Maurittii, 1832.

GARNICA, Sigisfredo et al. Phylogenetic relationships in *Cortinarius*, section *Calochroi*, inferred from nuclear DNA sequences. **BMC Evolutionary Biology**, v. 9, p. 1-17, 2009.

GASPARINI, B. *Cortinarius* subgenus *Orellani* in Australia and in the world. **Australasian Mycologist**, v. 23, n. 2, p. 62-76, 2004.

GRAY, Samuel F. **Natural Arrangement of British Plants: According to Their Relations to Each Other, as Pointed Out by Jussieu, De Candolle, Brown &c.: Including Those Cultivated for Use with an Introduction to Botany, in which the Terms Newly Introduced are Explained.** Baldwin, Cradock and Joy, 1821.

HARROWER, Emma et al. New species in Cortinarius section Cortinarius (Agaricales) from the Americas and Australasia. **MycoKeys**, v. 11, p. 1-21, 2015.

HAWKSWORTH, David L. “The Fungal Dimension of Biodiversity: Magnitude, Significance and Conservation.” **Mycological Research**, v. 95, p. 641-55, 1991.

HE, Mao-Qiang et al. Notes, outline and divergence times of Basidiomycota. **Fungal diversity**, v. 99, n. 1, p. 105-367, 2019.

IBAMA. Floresta Nacional do Tapajós: plano de manejo. 2004. Disponível em: http://www.icmbio.gov.br/portal/images/stories/imgs-unidades-coservacao/flona_tapajoss.pdf. Acesso em: 15 jun. 2023.

IBAMA / LINHARES, Sérgio & GEWANDSZNAJDER, Fernando. *Biologia Hoje – Vol 3*. São Paulo: ed. Ática, 1998.

KONRAD, P., MAUBLANC, A. Ut tribus Agaricacearum, Cortinaries. Prodrôme, **Ann. Sc. Nar, Bot**, v. 9, p. 371, 1889.

KONRAD, P. & MAUBLANC, A. Leones selecte e fungo rum 6: 122, 1928.

LIIMATAINEN, Kare et al. Taming the beast: a revised classification of Cortinariaceae based on genomic data. **Fungal Diversity**, v. 112, n. 1, p. 89-170, 2022.

LIIMATAINEN, K. et al. The largest type study of Agaricales species to date: bringing identification and nomenclature of Phlegmacium (Cortinarius) into the DNA era. **Persoonia-Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi**, v. 33, n. 1, p. 98-140, 2014.

MATHENY, P. Brandon et al. Major clades of Agaricales: a multilocus phylogenetic overview. **Mycologia**, v. 98, n. 6, p. 982-995, 2006.

NISKANEN T, Liimatanen K, KYTÖUVORI I, AMMIRATTI JF. Nomenclatural novelties. *Index Fungorum* v. 256, p. 1–2, 2015.

Online Auction Color. The Online Auction Color Chart. Online Auction Color Co., Stanford, 2004.

PERSOON, Christian Hendrik. **Synopsis methodica fungorum. Sistens enumerationem omnium huc vsque detectarum specierum, cum breuibis descriptionibus nec non synonymis et obseruationibus selectis.** Apud Henricum Dieterich, 1801.

PUTZKE, J.; MTL, Putzke. Cogumelos (fungos Agaricales) no Brasil-Ordens Boletales (Boletaceae e Paxillaceae), Polyporales (Polyporaceae/Lentinaceae), Russulales (Russulaceae) e Agaricales (Cortinariaceae, Inocybaceae, Pluteaceae e Strophariaceae). **São Gabriel**, v. 2, 2019.

PUTZKE, J. Lista de fungos Agaricales (Basidiomycotina, Hymenomycetes) referidos para Brasil. **Caderno de Pesquisas Série Botânica**, v. 6, p. 1-189, 1994.

RIZZINI, Carlos Toledo. **Latim para botânicos: ensaio sobre o uso do latim na botânica.** Fundação Gonçalo Moniz, 1955.

SANTOS, Fabio Guerra; CAMARGO, Plinio Barbosa de; OLIVEIRA JUNIOR, Raimundo Cosme de. Estoque e dinâmica de biomassa arbórea em Floresta Ombrófila Densa na Flona Tapajós: Amazônia Oriental. **Ciência Florestal**, v. 28, p. 1049-1059, 2018.

SINGER, Rolf et al. The ectotrophically mycorrhizal fungi of the neotropical lowlands, especially central Amazonia.(Litter decomposition and ectomycorrhiza in Amazonian forests 2.). **Beihfte zur Nova hedwigia**, n. 77, 1983.

SINGER, R. The Agaricales in Modern Taxonomy, Koeltz Sc. **Books, Koenigstein**, 1986.

SINGER, Rolf. Thaxterogaster—a new link between Gastromycetes and Agaricales. **Mycologia**, v. 43, n. 2, p. 215-228, 1951.

SINGER, R. The genus Termitomyces. **Lilloa**, v. 22, p. 524, 1949.

SINGER, R. **Nova Hedw**, v. 22, p. 524, 1949.

SOOP, K. et al. A phylogenetic approach to a global supraspecific taxonomy of Cortinarius (Agaricales) with an emphasis on the southern mycota. **Persoonia-Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi**, v. 42, n. 1, p. 261-290, 2019.

TROG, Jacob Gabriel. **Verzeichniss schweizerischer Schwämme,(welche grösstentheils in der Umgebung von Thun gesammelt worden sind)**. Verlag nicht ermittelbar, 1844.

ULBRICH, Eberhard. Die höheren Pilze. G. Lindau, **Kryptogamenflora für Anfänger**, Bd, v. 1, 1928.

WIJAYAWARDENE, Nalin N. et al. Outline of Fungi and fungus-like taxa. **Mycosphere Online: Journal of Fungal Biology**, v. 11, n. 1, p. 1060-1456, 2020.

WÜNSCHE, F.O. **Die Pilze**. v. 87, p. 128, 1877.

YOKOMIZO, NKS; RODRIGUES, E. Associação ectomicorrízica entre *Suillus luteus* e *Pinus elliottii* var *elliottii*. **Revista do Instituto Florestal, São Paulo**, v. 10, n. 1, p. 73-79, 1998.