



INSTITUTO NACIONAL DE PESQUISA DA AMAZÔNIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIODIVERSIDADE  
E BIOTECNOLOGIA DA REDE BIONORTE



**DIVERSIDADE DA FAMÍLIA *Hymenochaetaceae* DONK DA  
AMAZÔNIA BRASILEIRA E AVALIAÇÃO DA BIOATIVIDADE DE  
EXTRATOS DE *Phellinus crystallis*, UMA NOVA ESPÉCIE COM  
PESPECTIVA FUTURA DE POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO**

MARIA APARECIDA DA SILVA

Manaus - AM

2021

MARIA APARECIDA DA SILVA

**DIVERSIDADE DA FAMÍLIA *Hymenochaetaceae* DONK DA  
AMAZÔNIA BRASILEIRA E AVALIAÇÃO DA BIOATIVIDADE DE  
EXTRATOS DE *Phellinus crystallis*, UMA NOVA ESPÉCIE COM  
PESPECTIVA FUTURA DE POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO**

Tese de doutorado apresentada ao Curso de Doutorado do Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Biotecnologia da Rede BIONORTE, no Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, como requisito para a obtenção do Título de Doutor em Biodiversidade Conservação e Biotecnologia.

Orientadora: Dra. Ceci Sales-Campos

Coorientadora: Dra. Maria Aparecida de Jesus

Manaus - AM

04/2021

**Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da Universidade do Amazonas**

S586  
2021

Silva, Maria Aparecida da  
Diversidade da família hymenochaetaceae donk da Amazônia brasileira e avaliação da bioatividade de extratos de phellinus crystallis, uma nova espécie com perspectiva futura de potencial biotecnológico/ Maria Aparecida da Silva. – Manaus (AM) : [s.n], 2021.  
132 p.; 30 cm.

Tese (Doutor em Biodiversidade Conservação e Biotecnologia.) – Universidade do Estado do Amazonas, Manaus, 2021.  
Orientador: Prof<sup>ª</sup> Dra. Ceci Sales-Campos  
Co-orientador (a): Prof<sup>ª</sup> Dra. Maria Aparecida de Jesus

1. Atividade antimicrobiana. 2. Biodiversidade. 3. Filogenia. I. Sales-Campos, Ceci (Orient.). II. Jesus, Maria Aparecida de (Co-orient.). III. Universidade do Estado do Amazonas. IV. Título.

CDU 1997 – 577.2 (043.2)

MARIA APARECIDA DA SILVA

**DIVERSIDADE DA FAMÍLIA *Hymenochaetaceae* DONK DA  
AMAZÔNIA BRASILEIRA E AVALIAÇÃO DA BIOATIVIDADE DE  
EXTRATOS DE *Phellinus crystallis*, UMA NOVA ESPÉCIE COM  
PESPECTIVA FUTURA DE POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO**

Tese de doutorado apresentada ao Curso de  
Doutorado do Programa de Pós-Graduação em  
Biodiversidade e Biotecnologia da Rede  
BIONORTE, no Instituto Nacional de Pesquisas da  
Amazônia, como requisito para a obtenção do Título  
de Doutor em Biodiversidade Conservação e  
Biotecnologia.

Aprovada em 04/2021

**Banca examinadora**



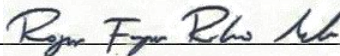
---

Dra. Ceci Sales da Gama Campos (Orientador)  
Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia



---

Profa. Dra. Adriene Mayra da Silva Soares  
Universidade Federal Rural da Amazônia



---

Prof. Dr. Roger Fagner Ribeiro Melo  
Universidade Federal de Pernambuco



---

Profa. Dra. Antônia Queiroz Lima de Souza  
Universidade Federal do Amazonas



---

Dr. Luiz Antônio de Oliveira  
Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia

À minha Mãe (*In memoriam*).

## AGRADECIMENTOS

Agradeço aos meus pais Inácio Gomes da Silva e Elvira Wagna da Silva (*In memoriam*) por seus exemplos de vida e por apoiarem incondicionalmente aos meus sonhos.

Ao Dr. Marcos Mateus Barros Barbosa pelo incentivo a nunca desistir da pesquisa científica.

Às minhas orientadoras Dra. Ceci Sales-Campos e Dra. Maria Aparecida de Jesus por ter me acolhido e pela confiança em mim depositada, pela paciência, dedicação e compreensão.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de doutorado e pela oportunidade de realização deste trabalho, através do financiamento via Projeto CAPES/Pró-Amazônia, no 3255/2013: Macromicetos amazônicos: conhecendo a sua diversidade e avaliando os seus potenciais biotecnológicos de modo sustentável, pelo suporte financeiro.

Ao Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Biotecnologia da Rede BIONORTE da Universidade Federal do Amazonas (UFAM), nas pessoas dos Coordenadores regionais Dr. Jair Max Furtunato e Dr. Hector H. F. Koolen e da secretária Tânia Lúcia Viana de Souza, agradeço a oportunidade em desenvolver este trabalho.

Ao professor Dr. Adolfo José da Mota e à professora Dra. Antonia Queiroz Lima de Souza pelo auxílio nos estudos moleculares e de atividade antimicrobiana e pela infraestrutura oferecida.

Ao Dr. Genivaldo Alves Silva pelo auxílio da identificação e/ou na confirmação de alguns espécimes de *Hymenochaetaceae*.

Ao Dr. Sergio Dantas e à Dra. Larissa Ramos Chevreuil por todas as correções feitas nesta tese e pelas importantes contribuições ao trabalho, tanto dentro dos laboratórios, nas análises de dados e quanto nos impressionantes debates científicos.

À todos os docentes Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Biotecnologia da Rede BIONORTE por todo o ensinamento que sempre me dispensaram.

Aos responsáveis pelas áreas de coleta, pelas facilidades concedidas.

Ao Prof. Dr. Paulo Sergio Lucio Marinho, pela paciência, dedicação e amizade durante a orientação do estágio desenvolvido na Universidade Federal do Rio Grande do Norte.

Aos amigos do Laboratório de Patologia da Madeira, em especial a Rafaela Saraiva Peres, Nadir Dantas Said, Jaqueline Gomes, Flavio Costa, Douglas Couceiro, pela amizade, pelo prazeroso convívio e inestimáveis momentos de descontração.

À minha companheira de doutorado, de laboratórios, de coletas, de experimentos intermináveis a doutoranda Kely da Silva Cruz.

À minha irmã Camila Monaliza da Silva, por todo apoio que me deu.

Às minhas parceiras do laboratório de Genética Suelem Dias, Lucivana Mourão, Marjory Ximenes Rabelo e Alessandra Magalhães pela ajuda nos experimentos, pelas conversas e cafés.

Aos meus grandes e eternos amigos, pelo afeto e força em todos os momentos: Carla Batista Estefane, Lanna Lobo, Samanta Souza, Edson Carmo.

Um especial agradecimento a Khadija Jobim por todo apoio que me deu na formatação do trabalho e nas discussões científicas madrugadas afora.

*"Feito é melhor que perfeito."*

Sheryl Sandberg, diretora de operações do Facebook.



## RESUMO

Nos últimos anos, os fungos vêm ganhando um maior destaque na produção de diversas substâncias e, por essa razão, as pesquisas no contexto biotecnológico têm se intensificado. As espécies da família *Hymenochaetaceae* (Polyporales, Basidiomycota) são caracterizadas por reagirem ao entrar em contato com hidróxido de potássio (reação xantocroica) causando o enegrecimento de várias estruturas. Muitas espécies desta família formam associações com outros organismos, participando, assim, do intrincado e delicado equilíbrio nos ecossistemas. O melhor exemplo do uso biotecnológico de *Hymenochaetaceae*, é *Phellinus baumii* usado na cultura chinesa e em vários outros países no tratamento de câncer, diabetes e toxicidades. Nesse contexto, o presente trabalho teve como objetivo determinar a diversidade de fungos himenoquetoides, estabelecendo suas relações filogenéticas com espécies afins, e avaliar a bioatividade de extratos obtidos de isolados fúngicos (culturas puras). As coletas dos basidiomas foram realizadas na Reserva Florestal Adolpho Ducke (RFAD) e Estação Experimental de Silvicultura Tropical (ZF-2), no estado do Amazonas, e no Parque Nacional do Viruá (PNV), no estado de Roraima. As identificações morfológicas foram realizadas a partir dos basidiomas desidratados e as análises filogenéticas a partir de sequências nucleotídicas da região ITS. O potencial biotecnológico foi avaliado a partir da atividade antimicrobiana de extratos brutos provenientes da biomassa micelial dos himenoquetoides isolados. Os estudos morfológicos permitiram a identificação de 362 espécimes distribuídas em 69 espécies com novas referências para os estados estudados, para a região Amazônica, Brasil e Américas, além da descrição de duas novas espécies (*Inonotopsis amazonicus* e *Phellinus crystallis*) para a ciência. *Phellinus crystallis* é confirmada por análises moleculares e filogenia como uma nova espécie, os extratos oriundos do caldo de cultivo e micélio apresentam potencial bacteriostático para a bactéria *Estafilococos faecalis* e fungistático para os fungos *Candida albicans* e *C. tropicalis*. Este trabalho apresenta dados iniciais podem subsidiar outros estudos de bioprospecção e purificação de moléculas a partir de *P. crystallis*, por análise *in vitro* e *in vivo* que viabiliza o potencial antimicrobiano, antiplasmódico e antifúngico para fins terapêuticos.

**Palavras-chave:** Atividade antimicrobiana, Biodiversidade, Filogenia, Fungos himenoquetoides.

## ABSTRACT

In recent years, fungi have been gaining greater prominence in the production of various substances and, for this reason, research in biotechnological contexts has intensified. The species of the *Hymenochaetaceae* family are characterized by reacting on contact with potassium hydroxide (xanthochroic reaction) causing the blackening of various structures. Many species of the *Hymenochaetaceae* family form associations with other organisms, thus participating in the intricate and delicate balance in ecosystems. In *Hymenochaetaceae*, the best example of the biotechnological use of this genus is *Phellinus baumii* used in Chinese culture and in several other countries in the treatment of cancer, diabetes and toxicities. In this context, the present study aimed to determine the diversity of hymenochaetoid fungi, establishing their phylogenetic relationships with similar species, and to evaluate the bioactivity of extracts obtained from isolates (pure cultures). Basidioma collections were performed at the Adolpho Ducke Forest Reserve (RFAD) and Tropical Silviculture Experimental Station (ZF-2), in the State of Amazonas, and at the Viruá National Park (PNV), in the State of Roraima. Morphological identifications were carried out using dehydrated basidiomas and phylogenetic analyzes using nucleotide sequences from the ITS region. The biotechnological potential was evaluated based on the antimicrobial activity of crude extracts from the mycelial biomass of the isolated hymenochaetoid. The morphological studies allowed the identification of 362 specimens distributed in 69 species with new references for the states studied, for the Amazon region, Brazil and the Americas, in addition to two new world references (*Inonotopsis amazonicus* and *Phellinus crystallis*). The species *Phellinus crystallis* is confirmed by molecular analysis and phylogeny as a new species, the extracts from its broth and mycelium show bacteriostatic potential for the bacteria *Staphylococcus faecalis* and fungistatic for the fungi *Candida albicans* and *C. tropicalis*. This work presents initial data for further studies of bioprospecting and purification of molecules from *P. crystallis*, by in vitro and in vivo analysis that may enable the antimicrobial, antiplasmodic and antifungal potential for therapeutic purposes.

**Keywords:** Antimicrobial activity, Biodiversity, Phylogeny, hymenochaetoid fungi.

## LISTA DE FIGURAS

### I. REVISÃO DE LITERATURA

- Figura 1 – Aspectos morfológicos da família *Hymenochaetaceae*. A. Reação xantocroica na presença de KOH; B. Basidioma apresentando cor castanho avermelhado.....22
- Figura 2 – Basidiomas de morfotipos. A. Ressupinado; B. Pileado; C. Efuso-reflexo; D. Estipitado.....23
- Figura 3 – Superfícies dos Basidiomas. A. Pileal; B. Himenial; C. Superfície himenial com destaque nos poros (RYVARDEN, 2004).....24
- Figura 4 – Formas do contexto. A. Anual; B. Perene.....25
- Figura 5 – Tipos de hifas. A. Generativas; B. Esqueléteas (RYVARDEN, 2004).....25
- Figura 6 – Tipos de esporos encontrados em *Hymenochaetaceae*. A. Globoso; B. Subgloboso; C. Truncado; D. Amplamente elipsoide; E. Oblongo elipsoide (RYVARDEN, 2004).....26
- Figura 7 – Estruturas de *Hymenochaetaceae*. A. Cistidíolos; B. Dendrohifas.....27
- Figura 8 – Tipos de setas. A. Subulada; B. Ventricosa; C. Seta com inchaço lateral; D. Formato de gancho.....28
- Figura 9 – Esquema das regiões espaçadoras ITS 1 e ITS2 .....32

**II. ARTIGO ACEITO (REVISTA CHECKLIST): NOTES ON FOMITIPORIA MURRIL IN AMAZON REGION: A LIST OF SPECIES AND NEW REFERENCES**

Figura 1 – See in the article (<https://doi.org/10.15560/17.2.323>)

**III. MANUSCRITO SUBMETIDO (REVISTA PHYTOTAXA): DIVERSITY OF HYMENOGYNIACEAE (HYMENOGYNIATALES, BASIDIOMYCOTA) WITH MONOMITIC HYPHAL SYSTEMS FROM THE BRAZILIAN AMAZON**

Figura 1 – *Inonotopsis amazonicus*. A. Basidioma; B. Basidiospores; C. Generative hyphae; D. Crystal. Photography by M.A. Silva. and drawings by F. F. C. Magalhães.....52

**IV. MANUSCRITO SUBMETIDO (REVISTA ACTA AMAZONICA): A PRELIMINARY SURVEY OF *Phellinus* (HYMENOGYNIACEAE) IN THREE CONSERVATION AREA OF THE AMAZON BRAZILIAN RAINFOREST**

Figura 1 – Macro and microscopic characteristics of *Phellinus*. *P. amazonicus*: A basidiome, a spores (s.) and setae (st.); *P. extensus*: B basidiome, b spores (s.) and setae (st.); *P. fibrosus*: C basidiome, c spores (s.) and setae (st.); *P. nigicans*: D basidiome, d spores (s.) and setae (st.). *P. shaferi*: E basidiome, e spores (s.) and setae (st.); *P. tremulae*: F basidiome, f spores (s.) and setae (st.); *Phellinus tuberculatus*: G basidioma, g spores (s.) and setae (st.). Photography by Silva, M.A. and drawings by Magalhães, F.F.C.....70

Figura 2 – Distribution of *Phellinus* species in the Brazilian Amazon region.....72

**V. MANUSCRITO A SER SUBMETIDO (REVISTA MYCOTAXON): DIVERSITY OF POROID FUNGI OF THE GENERA *Fulvifomes* (BASIDIOMYCOTA) IN THE WESTERN AMAZON**

Figura 1 – The sampling sites in the Viruá National Park, Experimental Station of Tropical Forestry (ZF-2) and Adolpho Ducke Forest Reserve, Brazil with distribution of *Fulvifomes* specimens.....80

Figura 2 – Macro and microscopic characteristics of *Fulvifomes* (i basidioma, ii spores photo, iii spores illustration). A *Fulvifomes cesatii*; B *Fulvifomes fastuosus*; C *Fulvifomes glaucescens*

D *Fulvifomes grenadensis*; E *Fulvifomes inermis*; F *Fulvifomes kanehirae*; G *Fulvifomes rimosus*. Photography by Silva, M.A.....86

**VI. MANUSCRITO A SER SUBMETIDO (REVISTA BIOTECNOLOGIA CIÊNCIA):  
IDENTIFICAÇÃO MORFOLÓGICA E MOLECULAR DE *Phellinus crystallis* sp. nov.  
(HYMENOGATAEAE) E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE BIOLÓGICA DE SEUS  
EXTRATOS**

Figura 1 – *Phellinus crystallis* sp. nov. (CMINPA, 1938). A) Basidioma in situ. B) Vista superior da cultura. C) Vista inferior da cultura; D) Microestruturas da cultura (CMINPA, 1938).....108

Figura 2 – Árvores filogenética de 11 espécies selecionadas do gênero *Phellinus* (*Hymenochaetaceae*) e duas espécies do gênero *Inonotus* usadas como outgroup. Árvore de máxima verossimilhança composta (MCL), uma árvore NJ e BioNJ. Os valores de bootstrap (não menos que 50%) são indicados como porcentagens nos nós.....109

Figura 3 – Viabilidade celular (%) das linhagens VERO (ATCC ® CCL-81 TM) em diferentes concentrações dos extratos provenientes do micélio (1838EM) e do caldo de cultivo (1838EC) de *Phellinus crystallis*. DMSO: dimetilsulfóxido (controle positivo).....110

Figura 4 – Curvas de dose-resposta normalizadas das diferentes concentrações dos extratos provenientes do micélio (1838EM) e do caldo de cultivo (1838EC) de *Phellinus crystallis*, testadas no ensaio de atividade antiplasmodial in vitro baseado em fluorescência, com o uso do quinina como droga controle negativo. DMSO: dimetilsulfóxido (controle positivo), HM: hemácias sadias (controle positivo), PF: *Plasmodium falciparum*.....111

## LISTA DE TABELAS

### **I. ARTIGO SUBMETIDO (REVISTA PHYTOTAXA): DIVERSITY OF HYMENOGAETACEAE (HYMENOGAETALES, BASIDIOMYCOTA) WITH MONOMITIC HYPHAL SYSTEMS FROM THE BRAZILIAN AMAZON**

Tabela 1 – List of all species of *Hymenochaetaceae* monomithic hyphal founded in Brazilian Amazon region.....41

### **II. MANUSCRITO A SER SUBMETIDO (REVISTA BIOTECNOLOGIA & CIÊNCIA): IDENTIFICAÇÃO MORFOLÓGICA E MOLECULAR DE *Phellinus crystallis* sp. nov. (HYMENOGATAACEAE) E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE BIOLÓGICA DE SEUS EXTRATOS**

Tabela 1 – Atividade antibacteriana dos extratos de *Phellinus crystallis*, proveniente do micélio fúngico (1838EM) e do caldo de cultivo (1838EC).....109

## SUMÁRIO

|            |  |    |
|------------|--|----|
| <b>1</b>   | <b>INTRODUÇÃO</b> .....  | 18 |
| <b>2</b>   | <b>REVISÃO DE LITERATURA</b> .....   | 21 |
| <b>2.1</b> | <b>INTRODUÇÃO AO REINO FUNGI</b> .....   | 21 |
| <b>2.2</b> | <b>CARACTERÍSTICAS GERAIS DA FAMÍLIA <i>HYMENOCHAETACEAE</i></b> .....   | 22 |
| <b>2.3</b> | <b>SISTEMÁTICA E FILOGENIA MOLECULAR</b> .....   | 28 |
| 2.3.1      | <i>Considerações gerais</i> .....  | 28 |
| 2.3.2      | <i>Mudanças evolutivas nas sequências de DNA</i> .....   | 29 |
| 2.3.3      | <i>Métodos de reconstrução filogenéticas</i> .....   | 30 |
| 2.3.4      | <i>Espaçadores transcritos internos</i> .....  | 31 |
| <b>2.4</b> | <b>FAMÍLIA <i>HYMENOCHAETACEAE</i></b> .....   | 32 |
| <b>2.5</b> | <b>SITUAÇÃO DA FAMÍLIA <i>HYMENOCHAETACEAE</i> NO BRASIL E AMAZÔNIA</b> .....  | 33 |
| <b>2.6</b> | <b>USOS BIOTECNOLÓGICOS DE MACROFUNGOS (<i>HYMENOCHAETACEAE</i>)</b> .....   | 34 |
| <b>2.7</b> | <b>OBJETIVOS</b> .....   | 36 |
| 2.7.1      | GERAL.....   | 36 |
| 2.7.2      | ESPECÍFICOS.....   | 36 |
| <b>3.</b>  | <b>ARTIGO ACEITO (REVISTA CHECKLIST): NOTES ON <i>Fomitiporia</i> MURRIL IN AMAZON REGION: A LIST OF SPECIES AND NEW REFERENCE</b> .....   | 37 |
| <b>4.</b>  | <b>MANUSCRITO SUBMETIDO (REVISTA PHYTOTAXA): DIVERSITY OF <i>HYMENOCHAETACEAE</i> (HYMENOCHAETALES, BASIDIOMYCOTA) WITH MONOMITIC HYPHAL SYSTEMS FROM THE BRAZILIAN AMAZON</b> ..... | 38 |
|            | <i>Abstract</i> .....  | 38 |
|            | <i>Introduction</i> .....  | 38 |
|            | <i>Materials and methods</i> .....   | 39 |
|            | <i>Results</i> .....   | 40 |
|            | <i>Discussion</i> .....  | 55 |
|            | <i>Acknowledgment</i> .....  | 56 |

|  |    |
|--|----|
| <i>Bibliographic references</i> .....  | 56 |
| <b>5. MANUSCRITO SUBMETIDO (REVISTA ACTA AMAZONICA): A PRELIMINARY SURVEY OF <i>Phellinus</i> (HYMENOCHAETACEAE) IN THREE CONSERVATION AREA OF THE AMAZON BRAZILIAN RAINFOREST</b> .....                 | 62 |
| <i>Abstract</i> .....  | 62 |
| <i>Introduction</i> .....  | 63 |
| <i>Materials and methods</i> .....   | 63 |
| <i>Results</i> .....   | 64 |
| <i>Discussion</i> .....  | 71 |
| <i>Conclusion</i> .....  | 73 |
| <i>Acknowledgment</i> .....  | 73 |
| <i>References</i> .....  | 73 |
| <b>6. MANUSCRITO A SER SUBMETIDO (REVISTA MYCOTAXON): DIVERSITY OF POROID FUNGI OF THE GENERA FULVIFOMES (BASIDIOMYCOTA) IN THE WESTERN AMAZON</b> .....   | 77 |
| <i>Abstract</i> .....  | 77 |
| <i>Introduction</i> .....  | 77 |
| <i>Materials and methods</i> .....   | 78 |
| <i>Results</i> .....   | 79 |
| <i>Discussion</i> .....  | 86 |
| <i>Conclusion</i> .....  | 87 |
| <i>Acknowledgment</i> .....  | 87 |
| <i>References</i> .....  | 87 |
| <b>7. MANUSCRITO A SER SUBMETIDO (REVISTA ACTA AMAZONICA): LISTA DE ESPÉCIES DE FUNGOS PORÓIDES DIMÍTICOS DA FAMÍLIA HYMENOCHAETACEAE DE DOIS ESTADOS DA REGIÃO AMAZÔNICA (AMAZONAS E RORAIMA)</b> ..... | 91 |
| <i>Resumo</i> .....  | 91 |
| <i>Introdução</i> .....  | 91 |
| <i>Materiais e métodos</i> .....   | 92 |
| <i>Taxonomia</i> .....   | 93 |



|   |     |
|---|-----|
| <i>Agradecimentos</i> .....   | 96  |
| <i>Literatura Citada</i> .....  | 96  |
| <b>8. MANUSCRITO A SER SUBMETIDO (REVISTA BIOTECNOLOGIA &amp; CIÊNCIA): IDENTIFICAÇÃO MORFOLÓGICA E MOLECULAR DE <i>PHELLINUS CRYSTALLISS</i> SP.NOV. (HYMENOCHATACEAE) E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE BIOLÓGICA DE SEUS EXTRATOS</b> ..... | 100 |
| <i>Resumo</i> .....   | 100 |
| <i>Introdução</i> .....   | 101 |
| <i>Materiais e métodos</i> .....  | 102 |
| <i>Resultados</i> .....   | 106 |
| <i>Discussão</i> .....  | 110 |
| <i>Conclusão</i> .....  | 112 |
| <i>Agradecimentos</i> .....   | 112 |
| <i>Referências</i> .....  | 113 |
| <b>9. CONCLUSÕES</b> .....  | 119 |
| <b>10. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....   | 120 |
| <b>11. APÊNDICE</b> .....   | 131 |

## 1. INTRODUÇÃO

Atualmente os seres vivos estão agrupados, com base em similaridades genéticas, em três grandes domínios: Archaea, Bacteria e Eukarya (LONG et al., 2020). Durante muitos anos, o domínio Eukarya organismos com um núcleo organizado e delimitado por uma membrana, era dividido em apenas dois grandes grupos: plantas e animais. Contudo, os fungos começaram a ganhar identidade em um reino próprio, constituindo um grande grupo de organismos que ocupa grande amplitude de nichos ecológicos (ALEXOPOULOS, 1996).

Em uma estimativa conservadora, Hawksworth (1991, 2001) postulou que deve existir no mundo cerca de 1,5 milhão de espécies de fungos. Posteriormente, Blackwell (2011), em uma estimativa menos conservadora, estimou um valor equivalente a 5 milhões de espécies de fungos, considerando habitats pouco estudados, além de dados moleculares. Outro estudo em 2017 sugeriu uma estimativa de 2 a 3,8 milhões de espécies (HAWKSWORTH et al., 2017). Independente de qual estimativa seja mais aceita, é evidente o pouco conhecimento da biologia destes organismos que são importantes na manutenção dos ecossistemas (WICKLOW & CARROLL, 1981; SIQUEIRA; FRANCO, 1988) e na produção de metabólitos de interesse biotecnológico (BLENIS & CHOW, 2005; CHHABRA et al., 2008; EL-FALLAL & MOUSSA, 2008), assim como no folclore e na alimentação de muitos povos (LIU, 1984; YOKOMIZO & BONONI, 1985).

Dentre os basidiomicetos, os himenochaetoides constituem uma grande família denominada *Hymenochaetaceae* (DONK, 1948; RYVARDEN, 1991; DAI, 2010; GIBERTONI et al., 2012). Essa família é caracterizada por septos simples nas hifas generativas e reação xantocroica positiva (enegrecimento permanente de suas hifas na presença de hidróxido de cálcio - KOH). Geralmente, apresentam setas que são estruturas relevantes na separação de grupos. Apresentam, ainda, basidioma com cor variando desde amarelo até marrom escuro (RYVARDEN, 1991; DAI, 2010). Os membros de *Hymenochaetaceae* são sapróbios ou parasitas, tanto de gimnospermas quanto de angiospermas, qualificando-os como fundamentais no processo de ciclagem de carbono dos ecossistemas florestais (RYVARDEN, 1991).

Considerando a classificação proposta no dicionário de fungos (HE et al., 2019), para a família *Hymenochaetaceae*, que faz parte da ordem Hymenochaetales, são descritos 30 gêneros, que agrupam 478 espécies: *Asterodon* Pat., *Aurificaria* D. A. Reid, *Botryodontia* (Hjortstam & Ryvarden) Hjortstam, *Clavariachaete* Corner, *Coltricia* Gray, *Coltriciella* Murrill, *Cyclomyces* Kunze ex Fr., *Deviodontia* (Parmasto) Hjortstam & Ryvarden, *Dichochoaete* Parmasto, *Erythromyces* Hjortstam &

Ryvarden, *Fomitiporia* Murril, *Fulvifomes* Murril, *Fuscuporia* Murril, *Hydnochaete* Bres., *Hymenochaete* Lév., *Hymenochaetopsis* S.H. He & Jiao Yang, *Inocutis* Fiasson & Niemelä, *Inonotopsis* Parmarsto, *Inonotus* P. Karst., *Mensularia* Lázaro Ibiza, *Onnia* P. Karst., *Phellinidium* (Kotlába) Fiasson & Niemelä, *Phellinopsis* Y.C. Dai, *Phellinus* Quél., *Phylloporia* Murril, *Polystictus* Fr., *Porodaedelea* Murril, *Pseudoinonotus* T. Wagner & M. Fisch., *Pyrrhoderma* Imazeki e *Tubulicrinis* Donk. A segunda década do século XXI foi marcada por novas descrições de gêneros como por exemplo, *Phellinotus* Drechsler-Santos, Robledo & Rajchenb, *Sanghuangporus* Sheng H. Wu, L.W. Zhou & Y.C. Dai e *Tropicoporus* L.W. Zhou, Y.C. Dai & Sheng H. Wu (ZHOU et al., 2015; DRECHSLER-SANTOS et al., 2016).

A partir do início do século XXI os estudos moleculares vêm demonstrando que esta família apresenta diversos gêneros polifiléticos. Conseqüentemente vários táxons estão sendo revisados e novos gêneros estão sendo estabelecidos tanto para abrigar novas espécies, como para melhor explicar o fato de caracteres tradicionais ocorrerem em paralelo em diferentes grupos (WAGNER & FISCHER 2001, 2002; DAI et al., 2008; PIRES & GUGLIOTA, 2016).

No Brasil, os principais trabalhos sobre a família *Hymenochaetaceae* são originados do Domínio da Mata Atlântica com 103 espécies (BALTAZAR & GIBERTONI, 2009). No entanto, outros trabalhos com espécies da Caatinga e Amazônia contribuíram com novos registros para o grupo (MEDEIROS et al., 2003; GOMES-SILVA & GIBERTONI, 2009a,b; GOMES-SILVA et al., 2009; MARTINS-JÚNIOR et al., 2011; GIBERTONI et al., 2012; DRECHSLER-SANTOS et al., 2016).

Dentre os fungos produtores de diferentes substâncias de interesse econômico (antibióticos, vitaminas, aminoácidos e esteroides), destacam-se os fungos pertencentes ao filo Basidiomycota (BENEDICT & BRADY, 1972; YAMAÇ & BILGILI, 2006). As enzimas e metabólitos secundários produzidos por esses fungos vêm recebendo considerável interesse devido ao seu grande potencial como fármacos em aplicações biotecnológicas (LARSSON et al., 2005).

Várias espécies de *Phellinus* e *Inonotus* têm sido usadas na Ásia, tanto na medicina popular como na indústria farmacêutica. *Phellinus baumii* Pilát é aplicado no tratamento de câncer e diabetes (HWANG; SANG; JONG, 2007) e *Inonotus obliquus* (Ach. ex Pers.) Pilát no tratamento de doenças cardíacas e hepáticas e alguns tipos de câncer (CUI et al., 2005).

Um *screening* feito com 108 isolados de fungos agaricoides e poliporoides de várias regiões do Brasil, incluindo três espécies do gênero *Phellinus* (*Phellinus fastuosus* (Lév.) S. Ahmad,

*Phellinus gilvus* (Schwein.) Pat., e *Phellinus* sp.), apontou que essas espécies apresentam atividade antibacteriana e/ou antifúngica (ROSA et al., 2003).

O uso indiscriminado de antibióticos e outros agentes antimicrobianos têm induzido a uma seleção de patógenos microbianos mais resistentes, que se deve a processos moleculares complexos de mutação e recombinação gênica (WANNMACHER, 2004). Os antibióticos atuam como agentes seletivos, dentro de uma população microbiana, onde os mais aptos (resistentes) poderão desenvolver uma nova população de “supermicrobios” (MOTA et al., 2005).

Um dos maiores impactos da associação entre microrganismos e os fatores favoráveis às infecções é a multirresistência a drogas (MDR), um problema recorrente e crescente devido ao uso de antibióticos nos tratamentos de doenças causadas por microrganismos patogênicos. Assim, a resistência microbiana aos antibióticos aponta para a necessidade de novas estratégias no controle das doenças causadas por microrganismos patogênicos (GIAMARELLOS-BOURBOULIS et al., 2006). A busca por metabólitos de microrganismos tem sido uma alternativa aos antibióticos convencionais.

## 2. REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1. Introdução ao reino Fungi

Os fungos são organismos fascinantes que se diferem dos animais e plantas por aspectos morfológicos e funcionais, sendo a micologia (gr. *mykes*=fungi; gr. *logos*=estudo) a ciência responsável por estudá-los e os organismos a eles relacionados. De modo geral, são caracterizados por serem heterotróficos, o que os distingue das plantas; apresentam digestão extracelular, ou seja, secretam suas enzimas digestivas no substrato a ser digerido e, após a sua digestão, são absorvidos pelas hifas do fungo. Outros atributos são: 1) seu corpo vegetativo pode ser unicelular como nas leveduras, ou ser composto por um emaranhado de hifas chamado de micélio, que formará o corpo de frutificação; 2) a parede celular é formada por quitina na maioria das espécies, distinguindo-os das plantas em que predomina a celulose; formam esporos como forma de dispersão e 3) são organismos que não formam tecidos (ALEXOPOULOS et al., 1996; KENDRICK, 2000; ROBLEDO & URCELAY, 2009).

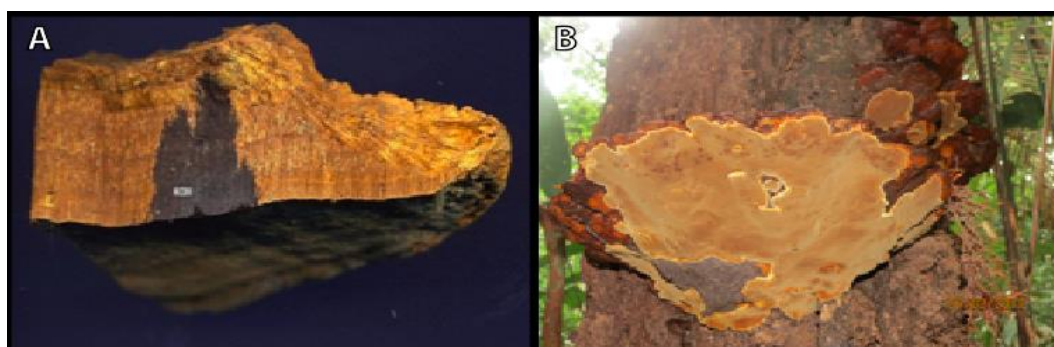
Os fungos são encontrados em quase todos os tipos de habitat, ocorrendo como leveduras unicelulares, fungos polimórficos e filamentosos, de forma livre ou simbiótica (ALEXOPOULOS et al., 1996). No ambiente terrestre, os fungos são importantes organismos decompositores, fitopatogênicos e simbiontes mutualistas (micorrizas e líquens), sendo protagonista importante nos ciclos biogeoquímicos do carbono, nitrogênio e oxigênio, além de auxiliar na manutenção do solo devido ao seu hábito de crescimento de ramificação filamentosa e produção de exopolímeros (GADD et al., 2007).

Sua importância não se restringe apenas à manutenção dos ecossistemas, como também à influência na vida dos seres humanos e às atividades relacionadas a eles, como por exemplo, na indústria farmacêutica com a produção de antibióticos como penicilina extraída do fungo *Penicillium*. Eles são usados na fabricação de cerveja, alguns são comestíveis podendo ser cultivados ou coletados para uso como alimento, têm grande importância na fermentação industrial, na área farmacêutica e indústrias biotecnológicas (HAWKSWORTH, 2004). Por outro lado, os representantes também podem causar danos que custam milhões de dólares a cada ano em decorrência da deterioração de alimentos, destruição e degradação de materiais usados por seres humanos e doenças de plantas e animais, incluindo os seres humanos (MÁRCIA & LÁZZARI, 1998; PEREIRA & CARVALHO, 2002; NGUEFACK et al., 2004; SHAH et al., 2008; AWAD et al., 2013).

Considerando a importância dos fungos, tanto para a manutenção dos ecossistemas quanto para atividades humanas, bem como os poucos estudos relacionados à diversidade desses importantes organismos, quando comparados ao que ainda se tem a conhecer, percebe-se a relevância de se estudar e inventariar a diversidade do reino.

## 2.2. Características gerais de *Hymenochaetaceae*

A família *Hymenochaetaceae* (Hymenochaetales, Basidiomycota) foi formalmente descrita por Donk (1948) e inclui espécies cujo basidioma reage permanentemente com o KOH (na concentração de 5%), ficando enegrecidos após o contato (reação xantocróica) (Figura 1A). O basidioma possui coloração marrom avermelhada devido aos esterpileos contidos nas hifas (Figura 1B), além disso, as hifas, diferente do que ocorre em outros grupos de fungos poroides, apresentam septos simples sem grampo de conexão. As estruturas setoides, localizadas no himênio ou fora dele chamadas de setas, são de grande importância taxonômica (CAMPOS-SANTANA, 2015).



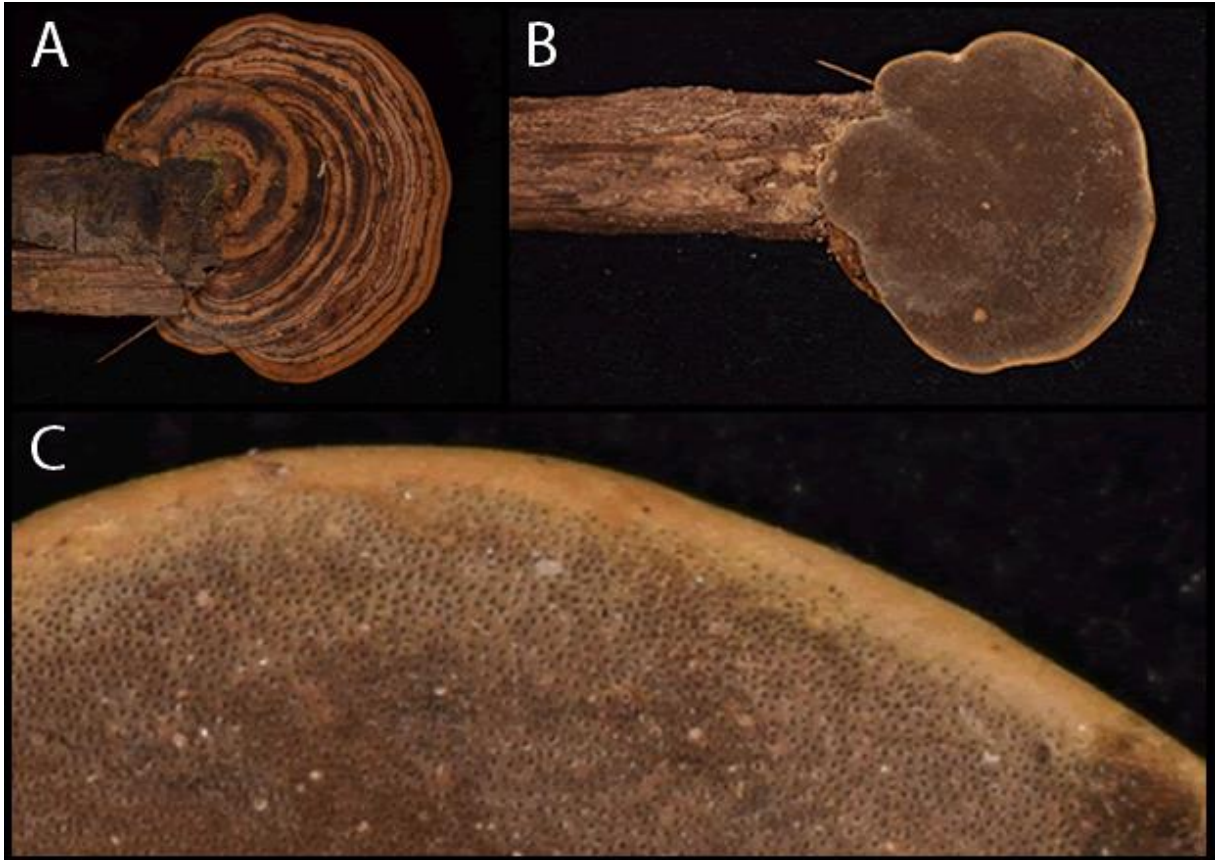
**Figura 1** – Aspectos morfológicos de *Hymenochaetaceae*. A. Reação xantocróica na presença de KOH; B. Basidioma apresentando cor castanho avermelhado.

Quanto à sua disposição no substrato, podem ser classificados em ressupinados (Figura 2A), com os basidiomas completamente aderidos ao substrato; pileados (Figura 2B), variando desde aplanados, convexos, flabeliformes e unguilados; efuso-reflexos (Figura 2C), a qual parte do basidioma está aderida ao substrato e parte projetando-se; ou estipitados (Figura 2D) (DONK, 1964).



**Figura 2** – Basidiomas de morfotipos de *Hymenochaetaceae*. A. Ressupinado; B. Pileado; C. Efuso-reflexo; D. Estipitado.

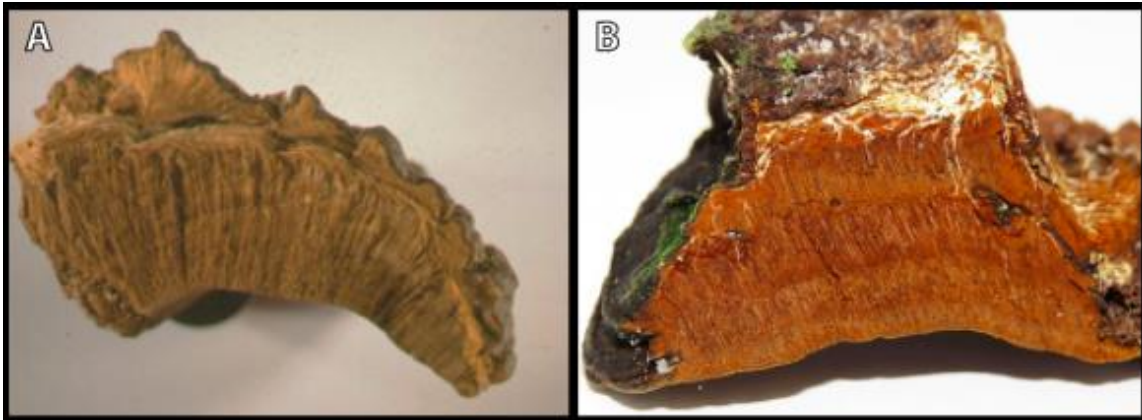
A superfície dos basidiomas pode ser pilosa (Figura 3A), glabra (sem pelos), geralmente fosca, ou um brilho discreto em poucas espécies e, apresentar-se zonada (com zonas concêntricas) ou azonadas, com cutícula negra ou avermelhada (GILBERTSON; RYVARDEN, 1986; RYVARDEN, 2004). O grupo apresenta desenvolvimento angiocarpico, pois a superfície himenial (Figura 3B) é exposta desde o início do seu desenvolvimento (FIDALGO; FIDALGO, 1967). O himênio das espécies da família *Hymenochaetaceae* é poroide (Figura 3C) ou lisa, onde são encontradas as microestruturas férteis e estéreis (FIDALGO; FIDALGO, 1967; FIDALGO, 1968; RYVARDEN, 2004).



**Figura 3** – Superfícies dos Basidiomas. A. Pileal; B. Himenial; C. Superfície himenial com destaque nos poros (RYVARDEN, 2004).

O contexto é constituído por uma trama de hifas que constitui o corpo do píleo, localizando-se entre as superfícies pileal e himenial, podendo ser duplo ou heterogêneo quando apresenta uma ou mais linhas negras cortando o contexto, ou homogêneo quando não apresenta estas linhas. O número de camadas de tubos pode ocorrer de duas formas: quando apresenta apenas uma camada de tubos acima do contexto é denominada anual (Figura 4A) e, quando apresenta duas ou mais camadas de poros e persistem por dois ou mais anos, são considerados perenes (Figura 4B) (FIDALGO; FIDALGO, 1967).

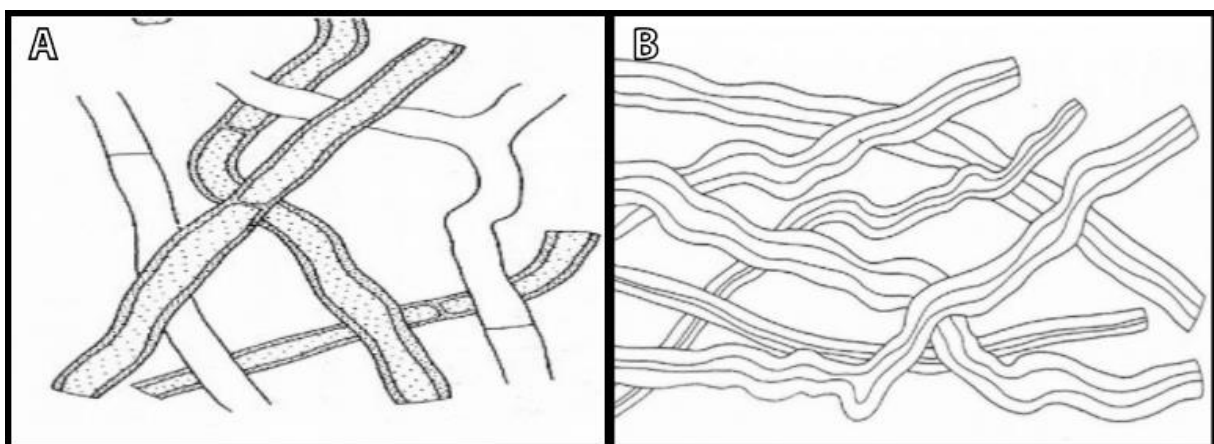




**Figura 4** – Formas do contexto. A. Anual; B. Perene.

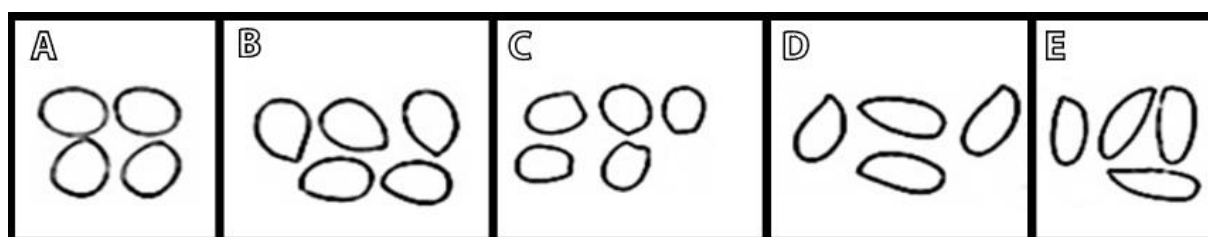
As características microscópicas são especialmente importantes tanto na taxonomia em nível de gênero quanto de espécie. Os fungos de *Hymenochaetaceae* apresentam sistema hifal que pode variar em monomítico, dimítico e trimítico. Algumas espécies podem ser monomíticas no contexto e dimítico nos tubos, tornando-se de extrema importância a descrição desta característica (RYVARDEN, 2004).

Os tipos de hifas mais comumente encontradas são as generativas e consiste em uma característica de extrema importância para o grupo (Figura 5A), visto que em espécies de *Hymenochaetaceae* as hifas não apresentam grampos de conexão, diferindo dos outros grupos de fungos poroides. Geralmente, as hifas são hialinas e de paredes finas. No caso das hifas esqueléteas, estas apresentam maior calibre e paredes grossas e apenas um septo simples na base da hifa (Figura 5B) (RYVARDEN, 2004).



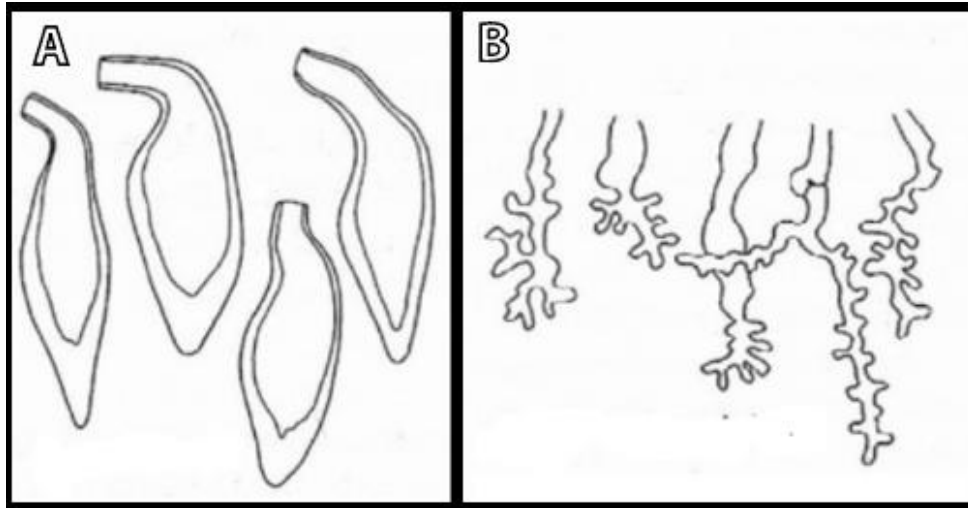
**Figura 5** – Tipos de hifas. A. Generativas; B. Esqueléteas (RYVARDEN, 2004).

Os basídios são tetraesporados, globosos a subglobosos, com presença de esterigmas (FIDALGO, 1965; RYVARDEN, 2004). Com relação a importância taxonômica para níveis inferiores, Fidalgo (1965) acredita que é uma característica relevante para níveis acima de gênero, enquanto Ryvarde (2004) cita que a variação no tamanho dos basídios deve ser considerada para classificar as espécies. Os basidiósporos produzidos nos basídios são liberados de forma ativa (liberação balistospórica) e possuem coloração hialina ou amarelada, a forma varia em globoso, subgloboso, truncado ou elíptico (Figura 6) (RYVARDEN, 2004). A reação das paredes celulares em contato com reagentes específicos consiste em um aspecto que auxilia na descrição de espécies, podendo ser agrupados em cianófilos, quando os esporos ficam com paredes azuladas ao serem corados com azul de algodão, ou acianófilos quando não mudam sua coloração em contato com o corante; quando as paredes reagem com o corante Melzer apresentando uma cor avermelhada dizemos que é dextrinoide ou amiloide quando se torna azulada, ou, ainda, quando promove reação com hidróxido de potássio 3% (KOH) apresentando uma coloração amarronzada (BALTAZAR, 2010).



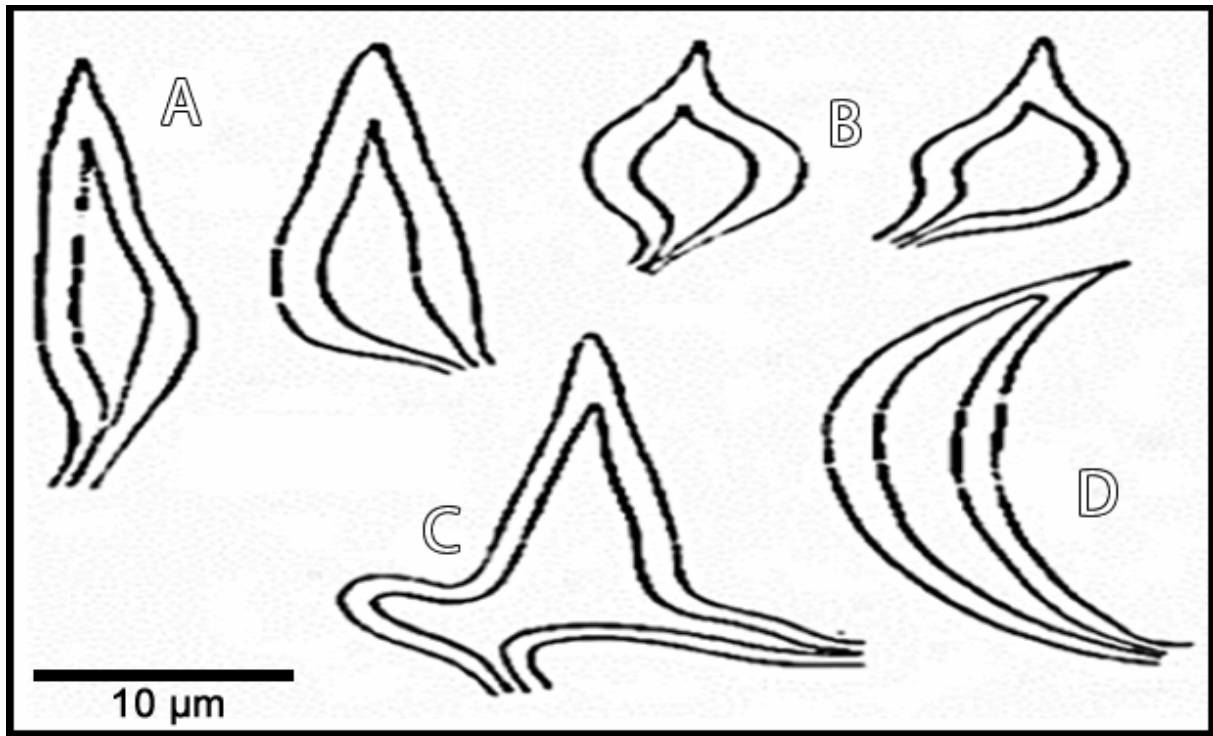
**Figura 6** – Tipos de esporos encontrados em *Hymenochaetaceae*. A. Globoso; B. Subgloboso; C. Truncado; D. Amplamente elipsoide; E. Oblongo elipsoide (RYVARDEN, 2004).

No himênio ainda são encontradas estruturas estéreis de grande valor taxonômico (FIDALGO & FIDALGO, 1967; FIDALGO, 1968; RYVARDEN, 2004). As duas estruturas mais importantes de *Hymenochaetaceae* são os cistidíolos (Figura 7A) e as dendrofitas (Figura 7B).



**Figura 7** – Estruturas de *Hymenochaetaceae*. A. Cistidíolos; B. Dendrohifas.

As setas são estruturas ornamentais (Figura 8) podendo ser tramais ou himeniais e correspondem à uma formação filamentosa estéril, espessa e de conteúdo escuro, parede espessada, formato acuminado, bifurcado, pontudo, subulado ou ventricoso (FIDALGO & FIDALGO, 1967; RYVARDEN & JOHANSEN, 1980; RYVARDEN, 2004). Essa microestrutura é característica de *Hymenochaetaceae*, sendo um importante critério taxonômico para identificação das espécies (RYVARDEN, 2004).



**Figura 8** – Tipos de setas. A. Subulada; B. Ventricosa; C. Seta com inchaço lateral; D. Formato de gancho.

### 2.3. Sistemática e Filogenia Molecular

#### 2.3.1. Considerações gerais

Técnicas moleculares tornaram-se rotina para detecção de espécies, ajudando a entender sua composição ao longo dos diferentes gradientes (PERSOH, 2015; BALINT et al., 2016; TEDERSOO & NILSSON, 2016). Métodos moleculares têm contribuído para o entendimento sobre as relações filogenéticas entre os fungos e tem alterado as propostas de classificação baseadas apenas em aspectos morfológicos (HIBBETT et al., 2007; WIJAYAWARDENE et al., 2018).

As relações filogenéticas entre as espécies vêm se tornando cada vez mais importantes na identificação das espécies. Tradicionalmente, as filogenias eram inferidas por caracteres morfológicos de espécies modernas e seus fósseis, mas a partir do final do século passado e início deste, as análises passaram cada vez mais a serem realizadas por meio de dados moleculares (HAWKSWORTH, 2004). As sequências proteicas abriram caminho para as inferências filogenéticas e, posteriormente, as análises a partir de dados de DNA. O sequenciamento de DNA tem evoluído consideravelmente sendo a maioria dos trabalhos atuais relacionados à filogenia molecular

alimentados com sequências de DNA. A análise de gene rRNA, marcadores de sequências de proteínas e as mudanças em altos níveis de taxa vem redefinindo a classificação da maioria dos grupos de fungos (JAMES et al., 2006; SPATAFORA et al., 2016, 2017; ZHAO et al., 2017). Atualmente, baseado em análises filogenéticas e estudos do tempo de divergência, foram adotados os seguintes filos: Aphelidiomycota, Entomophthoromycota, Monoblepharomycota, Neocallimastigomycota, Chytridiomycota, Blastocladiomycota, Zoopagomycota, Kickxellomycota, Mortierellomycota, Basidiobolomycota, Olpidiomycota, Mucoromycota, Glomeromycota, Entorrhizomycota, Basidiomycota e Ascomycota (TEDERSOO et al., 2018).

É importante ressaltar que a sistemática vem passando por grandes avanços não só com a ajuda da genética molecular, mas também com outras ferramentas como a quimiotaxonomia, microscopia eletrônica de varredura, MALDI-TOF, dentre outras. Desse modo, a taxonomia integrativa traz a proposta de unir várias ferramentas para reconhecer a diversidade (FLOT, 2015).

Segundo Padiál et al. (2010), a taxonomia precisa ser pluralista para a descoberta e descrição de novas espécies e desenvolver protocolos para produzir inventários que realmente indiquem a real diversidade fungica da região estudada. A taxonomia Lineana, aliada a dados moleculares, é um bom exemplo de como a taxonomia integrativa pode ocorrer (PADIAL et al., 2010; PANTE; SCHOELINCK; PUILLANDRE, 2014).

### 2.3.2. *Mudanças evolutivas nas sequências de DNA*

O grau de conservação evolutiva de um aminoácido em uma proteína ou ácido nucleico no DNA/RNA reflete no equilíbrio entre sua tendência natural de mutar e a necessidade geral de reter a integridade estrutural e a função da macromolécula (ASHKENAZY et al., 2016). Entender essas mudanças nas sequências de nucleotídeos indica quais mudanças evolutivas são interferidas de amostras contemporâneas, com informações incompletas passível de correção por modelos matemáticos (FARIA, 2011). Essas mudanças, que advêm de processos evolutivos, podem ser observadas em matrizes de caracteres alinhados e analisados por meio de árvores filogenéticas (FARIA, 2011).

Mutações, deleções e inserções alteram o comprimento das sequências de DNA mudando as posições relativas dos nucleotídeos e quando colocado em um alinhamento, esse problema é resolvido inserindo espaçamentos nas sequências que gera uma distância genética e, geralmente, quanto maior essas distâncias, mais distantes estarão os indivíduos, morfologicamente. Essas inserções ou deleções

criam uma distância ao longo de milhares de anos até chegar a um ponto de saturação. Como resultado, tem-se a sequência ancestral, as sequências dos ancestrais que apresentam essas variações e a sequência observada. Essas mudanças nas sequências de DNA e, conseqüentemente, nas de proteínas encorajam o desenvolvimento de técnicas estatísticas para inferência de filogenias (GEORGE; WILSON, 1979; BROWN et al., 1982; BROWN).

### *2.3.3. Métodos de reconstrução filogenéticas*

Entender as relações filogenéticas entre organismos é essencial para muitas questões ecológicas, biogeográficas e evolutivas, sendo a maioria das filogenias reconstruída a partir de pequenas porções de genoma, assim filogenia a partir de dados genômicos é uma ferramenta valiosa para entender um dado grupo de organismos. Os métodos gerais de reconstrução filogenética estão associados à similaridade, compreendendo a distância (fenético), parcimônia (cladístico) e verossimilhança (probabilístico).

O método de distância é baseado na similaridade entre duas sequências, atribuindo valores às diferenças existentes entre duas sequências e apresentando dois modelos de substituição, o modelo Jukes & Cantor, assume que todos os nucleotídeos têm a mesma probabilidade de mudar para qualquer outro nucleotídeo. Já o modelo Kimura-2-parâmetros assume taxas diferentes entre transições e transversões (BRUNO et al., 2000; LI et al., 2001). A vantagem desse método está na sua simplicidade e rapidez, no entanto, não considera os dados em si, apenas as distâncias.

A máxima parcimônia é um método cladístico e, portanto, considera os vários possíveis caminhos para a evolução. Este método supõe que o melhor caminho evolutivo seja o mais simples, baseando-se nas informações proporcionadas pelos caracteres derivados compartilhados (TAKAHASHI & NEI, 2000). Apresenta como vantagem a simplicidade atrelada a robustez de seus resultados e trabalha, assim como na análise de distância, com um considerável número de dados. A desvantagem é que esta análise pode apresentar resultados equivocados se a homoplasia for comum ou concentrada em partes específicas da árvore, além de exigir muito tempo computacional (BRUNO et al., 2000; SCHOCH et al., 2012).

A máxima verossimilhança usa cálculos probabilísticos para encontrar a árvore que melhor explica a variação dos dados através do processo de substituição, onde a expressão matemática é conhecida, contanto que os sítios evoluam independentemente (GAUT & LEWIS, 1995; BRAUER et al., 2002). Tem como vantagem usar todos os sítios, considerando o modelo evolutivo específico

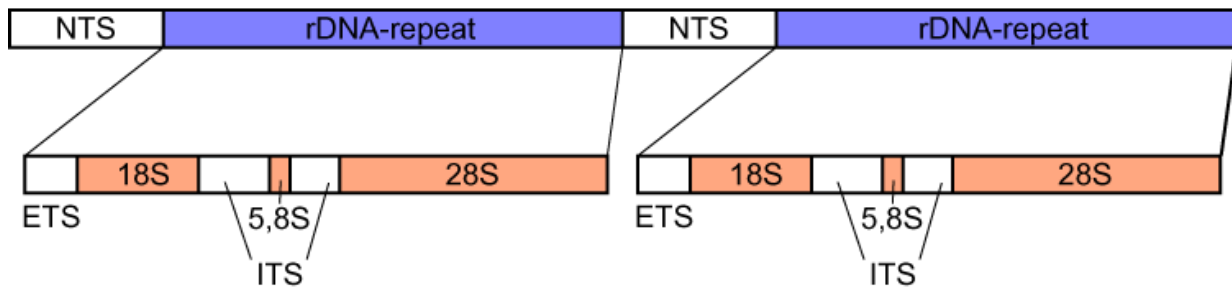
além de ser menos sensível a alteração de ramos longos, ao passo que, uma das principais desvantagens está na impossibilidade de analisar todas as árvores possíveis e, portanto, não se tem certeza se a árvore escolhida é realmente a melhor, além de exigir muito esforço computacional (TAKAHASHI & NEI, 2000).

#### 2.3.4. *Espaçadores transcritos internos*

A identificação de fungos em nível molecular tem avançado com o uso das regiões ITS (*Internal Transcribed Spacer*) e das regiões variáveis dos genes ribossomais rRNA (NILSSON et al., 2008; SCHOCH et al., 2012). Contudo, a região ITS não é indicada para avaliar famílias ou táxons mais altos impossibilitando abordagens filogenéticas e hipóteses ecológicas (CAVENDER-BARES et al., 2009). Para esses fins, o gene ribossomal rRNA 18S é o mais indicado, bem como para observar e entender processos dentro das comunidades ecológicas (MAHERALI & KLIRONOMOS, 2007; ROUSK et al., 2010).

Por meio da biologia molecular, uma série de marcadores genéticos está sendo utilizada para a identificação específica e, no estudo da genética de fungos, duas regiões gênicas têm sido rotineiramente usadas para caracterizar esse grupo: o conjunto de RNA ribossômico e o genoma mitocondrial (BALDWIN, 2004). Os genes ribossomais foram escolhidos por serem abundantes nos organismos e têm a característica importante de apresentar variações úteis tanto em regiões discretas dos genes como no comprimento e sequências das regiões espaçadoras (BALDWIN, 2004).

Essas regiões espaçadoras (ITS - espaçadores transcritos internos) sofrem menos pressões evolucionárias e mostram mais divergência de sequências para regiões codificadoras sendo ideais para uso na tipagem molecular (ESTEVE-ZARZOSO et al., 1999). As sequências mais usadas para o grupo são o ITS1 e ITS2 (Fig. 9) (HIBBETT et al., 2007; SCHOCH et al., 2012). Essa região é uma importante ferramenta para análise de DNA devido à baixa taxa de polimorfismo intraespecífico e, ainda por serem genes nucleares que sofrem menos mutações que os genes mitocondriais, sendo assim, mais indicados para a análise de diversidade e relações filogenéticas acima do nível de espécie (LI et al., 2001; NILSSON et al., 2008).



**Figura 9** – Esquema das regiões espaçadoras ITS 1 e ITS2.

#### 2.4. A família *Hymenochaetaceae*

De acordo com KIRK et al. (2008), a classe Agaricomycetes se divide em duas subclasses sendo Tremellomycetidae e Agaricomycetidae. A subclasse Agaricomycetidae é composta por seis ordens: Agaricales, Russalales, Thelephorales, Boletales e Hymenochaetales. Em 2007, um novo subfiló foi proposto para Basidiomycota, o subfiló Agaricomycotina, sendo composto pelas classes Agaricomycetes, Dacrymycetes, Entorrhizomycetes e Tremellomycetes (HIBBETT et al., 2007). A classe Agaricomycetes, nesta classificação, é composta por duas subclasses: Agaricomycetidae e Phallomycetidae. A ordem Hymenochaetales faz parte da subclasse Agaricomycetidae junto com as ordens Corticiales, Gloeophyllales, Polyporales, Russalales e Thelephorales (HIBBETT et al., 2007).

Em 1977 foi criada a ordem Hymenochaetales por Oberwinkler, com o objetivo de elevar taxonomicamente *Hymenochaetaceae*, e suas principais características são descritas com base nos trabalhos de DONK (1964) e PATOUILLARD (1990). Os primeiros estudos moleculares ocorreram ainda na década de 90 já indicando que esta ordem deveria ser tratada de forma mais abrangente. Como consequência, vários grupos externos à família foram adicionados *Hymenochaetaceae* (FISCHER & BINDER, 2004; TAYLOR et al., 2000).

As análises moleculares também indicam que *Hymenochaetaceae*, como foi anteriormente descrita, não é um grupo monofilético (WAGNER & FISCHER, 2001, 2002, 2017). Algumas espécies corticioides, como, por exemplo, *Basidioradulum radula* (Fr.) Nobles e *Hyphodontia quercina* (Pers.) J. Erikss. e mais duas espécies dos gêneros polipoporoides *Schizopora* Velen. e o gênero *Trichaptum* Murrill., foram alocadas no grupo de espécies himenoquetoides (LARSSON et al., 2006). Segundo LARSSON et al. (2006), *Hymenochaetaceae*, no seu sentido tradicional, realmente não tem suporte, mas seus resultados, entretanto, indicam uma monofilia do grupo excluindo apenas os gêneros *Coltricia* e *Coltriciella*. Já a subdivisão *Phellinus* Quél. e *Inonotus* P. Karst. em gêneros menores é suportada fortemente. Outro grupo encontrado neste estudo trata-se de



*Pseudochaete* T. Wagner & M. Fisch. e *Hymenochaete*, e une os gêneros *Stipitochaete* e *Hymenochaete* que anteriormente eram separados devido à morfologia do basidioma - *Stipitochaete* com basidioma estipitado e *Hymenochaete* com basidioma ressupinado.

Para *Hymenochaetaceae*, segundo Kirk et al., (2008), foram descritas 408 espécies, distribuídas em vinte e quatro gêneros. Os gêneros com maior número de espécies descritas são *Phellinus* (220 espécies), *Hymenochaete* (131) e *Inonotus* (101) (DAI, 2010). Devido a diversos estudos moleculares realizados nas duas últimas décadas, estes táxons vêm sofrendo intensas modificações, que estão alterando significativamente a modelagem deste complexo grupo (WAGNER & FISCHER, 2001, 2002; BINDER et al., 2005; LARSSON et al., 2006).

Novos gêneros foram introduzidos, com base em estudos filogenéticos como, por exemplo, *Phellopilus* Niemelä, T. Wagner & M. Fisch. (NIEMELÄ et al., 2000) e *Pseudoinonotus* (WAGNER & FISCHER, 2001), assim como muitos outros têm sido tratados como independentes (DAI, 2010). Nesta nova há uma diferença de 14 gêneros entre as edições 9 e 10 do Dicionário de Fungos, em que a nona edição, há relato de 14 gêneros enquanto que na décima houve o acréscimo de 10 gêneros, totalizando 24 atualmente descritos, com indicativo de aumento deste número nas próximas edições, visto que, apenas nesta última década mais três novos gêneros foram propostos: *Tropicoporus* (WU et al., 2015), *Sanghuangporus* (ZHOU et al., 2015), com um novo gênero descrito para o Brasil, o *Phellinotus* descoberto em 2016 (DRECHSLER-SANTOS et al., 2016).

## 2.5. Estado da arte de *Hymenochaetaceae* no Brasil e Amazônia

A primeira descoberta micológica do Brasil foi feita pelo Padre José de Anchieta que descreve em 1560 a “pedra flexível” na província de São Vicente (FIDALGO, 1968). Um fato que interferiu no desenvolvimento da micologia no Brasil é que os povos sul-americanos não são micófilos, e seu estudo foi feito, principalmente, por micologistas estrangeiros (CURVO, 2006). Dentre estes, destacamos os principais estudiosos: Link (1809), Cooke (1820, 1878, 1879, 1881, 1882, 1887, 1888, 1889, 1892), Ehrenberg (1820), Fries (1821, 1830, 1838, 1851), Raddi (1823), Montagne (1834, 1837, 1839, 1845, 1856), Saint-Hilaire (1835), Duby (1836), Berkeley (1839, 1842, 1843, 1849, 1851, 1856, 1877), Léivelè (1846), Berkeley & Montagne (1849), Wawra (1866), Berkeley & Cooke (1877), e outros (*apud* FIDALGO, 1968).

Os primeiros estudos sobre fungos na Amazônia foram realizados por Sprucei no Pará, sendo seu material analisado por Berkeley, resultando em uma lista com 20 espécies, dentre estas, 2 são poroides, mas nenhum deles pertencia a família *Hymenochaetaceae* (BERKELEY, 1851). Poucos

trabalhos foram feitos com fungos poroides e, apenas na década de 90, com os trabalhos de Sotão, é que estes fungos começaram a ser estudados com maior profundidade, incluindo *Hymenochaetaceae* (SOTÃO & BONONI, 1991; SOTÃO & FIGUEREDO, 1996; SOTÃO et al., 1997, 2002a,b, 2003). Jesus, também na década de 90, contribuiu grandemente para o conhecimento tanto dos fungos poroides em geral, quanto para *Hymenochaetaceae* (JESUS, 1995, 1996). Campos e Cavalcanti (2000) relatam a primeira ocorrência de *Phellinus mangrovicus* (Imazeki) Imazeki no Brasil. Cinco anos mais tarde, em 2005, foi publicado mais um trabalho com fungos Basidiomycetes de manguezais com três registros de *Phellinus* (*P. fastuosus*, *P. gilvus* e *P. mangrovicus*) (CAMPOS et al., 2005).

Nas duas últimas décadas, é possível observar um aumento significativo no conhecimento de fungos da família *Hymenochaetaceae*, começando com o trabalho de Gomes-Silva et al., (2009), em que os autores descrevem uma nova espécie de *Coltricia* (*C. globispora* Gomes-Silva, Ryvarden & Gibertoni), e mais três espécies de *Phellinus*, uma espécie de *Cyclomyces* Kunze ex Fr. e uma de *Phyloporia* Murril. Em 2010, nova referência de *Coltricia* é relatada para a região amazônica (BALTAZAR, 2010). No ano de 2011, outro trabalho foi publicado com as famílias *Ganodermataceae* e *Hymenochaetaceae* relatando três espécies de *Phellinus* (JÚNIOR; GIBERTONI & SOTÃO, 2011). No ano seguinte, duas novas espécies de *Phellinus* foram relatadas (GOMES-SILVA & RYVARDEN, 2012).

## **2.6. Usos biotecnológicos de macrofungos (*Hymenochaetaceae*)**

Produtos derivados de metabólitos secundários vêm sendo amplamente utilizados nas áreas médicas, industrial e agrícola como antibióticos, drogas anticancerígenas, agentes imunossupressores e polímeros, para aplicações industriais e tecnológicas (GUIMARÃES et al., 2010). A grande biodiversidade existente em países como o Brasil cada vez mais vem se tornando fonte de agentes antimicrobianos com usos farmacológicos contribuindo para o desenvolvimento na área da saúde em nível mundial, por detectar substâncias mais eficazes e menos tóxicas na corrida contra a resistência de microrganismos patogênicos (OSTOSKY, 2008; SILVA et al., 2010). Mesmo com os avanços tecnológicos das últimas décadas, as bactérias multirresistentes continuam sendo uma fonte de preocupação da comunidade médica, aumentando a necessidade pela busca de novos fármacos. SILVA et al. (2010) defendem em seu trabalho que a evolução dos processos biotecnológicos está diretamente relacionada à diversidade de microrganismos e às moléculas que eles produzem, corroborando com o pensamento de Ostosky (2008).

Os fungos constituem importante fonte nutricional e de medicamentos, terapias complementares, incluindo a medicina oriental e, além disso, os fungos são reconhecidos como fonte

estrutural única de metabólitos bioativos (EFFERTH et al., 2007; KARWEHL & STADLER, 2016). O primeiro trabalho sobre atividade de fungos contra outros microrganismos foi realizado por Ernest Duschesne em 1897 (SILVA et al., 2010) e, a partir dele, novos avanços surgiram com significativas contribuições para a obtenção de compostos bioativos a partir de microrganismos.

Nas duas últimas décadas vários trabalhos relacionados à biocompostos produzidos por fungos amazônicos foram realizados (SILVA et al., 2010; KIRSCH et al., 2011; KIRSCH et al., 2016), no entanto, nenhum trabalho com espécies de *Hymenochaetaceae*. No trabalho de Rosa et al. (2003) realizado com espécies de fungos oriundas da região sul do Brasil, são encontradas espécies himenoquetoides. Em nível mundial, a família já é utilizada há muito tempo por povos asiáticos através de costumes milenares e, conseqüentemente, essa região é onde concentra uma maior quantidade de pesquisas com espécies de *Hymenochaetaceae* (DAI, 2010).

Do ponto de vista biotecnológico, *Inonotus obliquus* (Fr.) Pilát é uma das espécies de *Hymenochaetaceae* mais estudada sendo que várias pesquisas que indicam que essa espécie apresenta atividade anti-inflamatória, analgésica, antioxidante e bons resultados no combate a diabetes, além de apresentar efeitos imunoestimulantes (PARK et al., 2005; LEE et al., 2007; ZHENG et al., 2008; HAM et al., 2009; SUN et al., 2008). Outro representante de *Hymenochaetaceae*, também bastante estudado, é *Phellinus linteus* (Berk. & M.A. Curtis) Teng que apresenta bons resultados para o combate ao câncer de pele e gástrico, além de apresentar atividade anti-inflamatória e antialérgica (IKEKAWA, 1968; PARK et al., 2010; HAN et al., 2016; PARK, 2017).

*Phellinus baumii* Pilát, assim como o *Inonotus obliquus* (Fr.) Pilát, também apresenta atividade anticancerígena, anti-inflamatória e no controle do diabetes (CHANG et al., 2007). O mais recente estudo foi de uma espécie do gênero *Sanghuangporus* Sheng H. Wu, L.W. Zhou & Y.C. Dai, que apresentou atividade antimicrobiana e neomicida (CHEPKIRUI et al., 2018).

Os trabalhos acima citados mostram que a família apresenta um grande potencial biotecnológico na indústria farmacêutica e de cosméticos. No entanto, também se observa que não existem muitas espécies sendo estudadas, onde, em um universo de mais de 400 catalogadas, apenas cinco espécies estão em estudo e, considerando ao nível de gênero, apenas três estão sendo pesquisadas (*Phellinus*, *Inonotus*, *Sanghuangporus*). Assim, verifica-se um número baixo de estudo em relação ao número de espécies existentes, o que sugere que a família apresenta um grande potencial ainda inexplorado.

## 2.7. Objetivos

### 2.7.1. Geral

Investigar a diversidade de fungos da família *Hymenochaetaceae* na região amazônica do Brasil, espécies afins e seu potencial para aplicação na obtenção de metabólitos de interesse biotecnológico.

### 2.7.2 Específicos

- Realizar levantamento das espécies de *Hymenochaetaceae* de três áreas da região amazônica;
- Descrever, ilustrar as espécies de *Hymenochaetaceae*;
- Avaliar a atividade antimicrobiana, citotóxica e antiplasmodial das culturas puras de *Phellinus*.

**3. ARTIGO PUBLICADO (REVISTA CHECKLIST): NOTES ON *FOMITIPORIA* MURRILL IN AMAZON REGION: A LIST OF SPECIES AND NEW REFERENCES.**

Artigo disponível na revista CHECKLIST em <https://doi.org/10.15560/17.2.323>

#### 4. MANUSCRITO SUBMETIDO (REVISTA PHYTOTAXA): DIVERSITY OF HYMENOGYSAETACEAE (HYMENOGYSAETALES, BASIDIOMYCOTA) WITH MONOMITIC HYPHAL SYSTEMS FROM THE BRAZILIAN AMAZON

MARIA APARECIDA DA SILVA<sup>1\*</sup>, MARIA APARECIDA DE JESUS<sup>2</sup>, RAFAELA SARAIVA PERES<sup>2</sup> & CECI SALES-CAMPOS<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Amazonas State University, Pos graduation of Biodiversity and Biotechnology Network of the Legal Amazon, Ave. Carvalho Leal, 1777 – Cachoeirinha, CEP: 69065-001 Manaus, AM, Brazil.

<sup>2</sup>National Institute of Amazonian Research, Ave. André Araújo, 2.936 – Petrópolis, CEP: 69067-375 Manaus, AM, Brazil.

\* Corresponding author: e-mail: cidoka83@icloud.com, cidoka83@gmail.com

#### Abstract

A total of 178 specimens was collected in different areas of the State of Amazonas and Roraima, Brazil. The specimens belong to six genera and were distributed in 24 species, among them *Coltricia velutina*, *Hymenochaete microcycla*, *H. carpatica*, *H. minuscula* and *Phylloporia fruticum* are reported as new to the Brazilian Amazon region, *Coltricia stuckertiana*, *H. adusta*, *Pseudoinonotus crustosus* and *P. dryadeus* for Brazil, and three new references for the Americas, *H. setipora*, *H. innexa* and *Inonotus perchocolatus* and for South America, *Coltricia fonsecoensis*, *C. minor* and *C. sideroides*, in addition a new species, *Inonotopsis amazonicus* sp.nov.

**Keywords:** Agaricomycetes, woody-decay, taxonomy, Brazil, Neotropical specie.

#### Introduction

A few studies about poroid macrofungi have been done and, only in the 90s, these fungi began to be reported in the Brazilian Amazon region, including those belonging to *Hymenochaetaceae* family (Sotão *et al.* 1991, 1997, 2002, 2003; Sotão & Figueredo 1996; Jesus 1995, 1996). Campos & Cavalcante (2000) had contributed greatly to the first occurrence of *Phellinus mangrovicus* (Imazeki) Imazeki in Brazil. In 2005, the same authors published one more paper about Agaricomycetes

(=Basidiomycetes) fungi reporting three records *P. fastuosus* (Lév.) S. Ahmad, *P. gilvus* (Schwein.) Pat. and *P. mangrovicus* (Imazeki) Imazeki (Campos *et al.* 2005).

In the last two decades there has been a significant increase in the knowledge of fungi of the *Hymenochaetaceae* family. The first monomitic species for the *Coltricia globispora* Gomes-Silva, Ryvar den & Gibertoni region were mentioned (Wagner & Fischer 2001), and some species of *Cyclomyces* Kunze ex Fr and *Phylloporia* Murril (Gomes-Silva *et al.* 2009). In 2010, a new reference for *Coltricia velutina* Baltazar & Gibertoni was reported for the Amazon region (Baltazar 2010). One year later year, *Phellinus fibrosus* Ryvar den, Gomes-Silva & Gibertoni and *P. sousae* Ryvar den, Gomes-Silva & Gibertoni were reported (Gomes-Silva *et al.* 2012).

Most of the hymenochaetoid taxa are part of a well-known group of decay fungi on wood, others are considered forest pathogens (Gilbertson & Ryvar den 1986, 1987; Dai *et al.* 2007; Dai 2010b; Rajchenberg & Robledo 2013) and some species have potential medicinal value (Dai *et al.* 2010; Wu *et al.* 2012) and few are mycorrhizitics (Larsson *et al.* 2006). Due to its ecological and economic importance, this group has received constant attention in recent years by mycologists, with emphasis on taxonomy and phylogeny (Rajchenberg *et al.* 2019).

Currently, according Flora do Brasil (2020), there are 26 monomitic species of *Hymenochaetaceae*. Only 13 of them has been reported for the Amazon region. Considering the scarcity of work about *Hymenochaetaceae* and especially those present monomitic species, this work aims reporting some of *Hymenochaetaceae* species collected throughout Brazilian Amazon region.

## Materials and Methods

### *Studied Areas*

The specimens were collected in the following natural reserves: Viruá National Park- (VNP), located in the State of Roraima and Adolpho Ducke Florestal Reserve (ADFR) and Tropical Silviculture Experimental Station (TSES-ZF2) in Amazonas State, during the rainy months of each State. Collection from the National Institute for Amazonia Research (Inpa) herbarium was added in this study.

### *Specimens studied*

The documented macromorphology of each specimen was examined following the methods described by Ryvarden & Gilbertson (1993) and Ryvarden (2005). Micromorphologically analyzed of each specimen followed usual methods for the study Robledo & Urcelay (2009). All sections of each sample were observed in 5% KOH and selectively in blue cotton, Melzer's reagent and water in order to verify amyloid and dextrinoid reaction from their spores and hyphae. The following abbreviations are used in the text: CB, cotton blue; CB-, acyanophilous; average spore size: L = mean spore length (arithmetic average of all spores), W = mean spore width (arithmetic average of all spores), Q = range in the length/width ratios between specimens studied and n (a/b) = total number of spores (a) measured from a given number (b) of specimens. The author's names of the species were taken from Mycobank (<http://www.mycobank.org/>) and world databases of fungal names were accessed in Index Fungorum (<http://www.indexfungorum.org>). All specimens were deposited at INPA Herbarium.

### **Results**

A total of 24 species of *Hymenochaetaceae* monomitic hyphal is listed in alphabetic order regardless of their taxonomic position (Table 1). Overall, it can be observed that fungal diversity of *Hymenochaetaceae* monomitic hyphal system is greater in the Brazilian Amazon region. In this work, can observed on Table 1 that Adolpho Ducke Florest Reserve had the highest number of species with 14 fungal species, followed by Tropical Silviculture Experimental Station where 13 species were founded, while in the Viruá National Park was collected 9 species. The greatest specimens number's occurs in Viruá National Park represented by 89 specimens, followed by Adolpho Ducke Florestal Reserve and Tropical Silviculture Experimental Station with 56 and 33, respectively. Relate to the genus, it can be verified that *Hymenochaete* is the greatest diversity in species, represented by nine of them. Only one of these species, *H. luteobadia*, occurs with 74 specimens, 7 distributed in the Tropical Silviculture Experimental Station and 14 in Adolpho Ducke Florest Reserve at Amazonas State, and 53 at Viruá National Park, located in the State of Roraima. Other genus, *Coltricia* is distributed with eight species distributed in all areas. Within of them *C. fonsecoensis* occurs with 3, 4 and 7 specimens in, Adolpho Ducke Florest Reserve, Tropical Silviculture Experimental Station and Viruá National Park, respectively.



**TABLE 1.** List of all species of *Hymenochaetaceae* monomithic hyphal founded in *Brazilian Amazon region*.

| Taxon   | State    |          |         | Total |
|---|----------|----------|---------|-------|
|   | Amazonas |          | Roraima |       |
|   | ADFR     | TSES-ZF2 | VNP     |       |
| <i>Coltricia barbata</i> Ryvarden & Meijer                        |          | 1        |         | 1     |
| <i>Coltricia cinnamomea</i> (Jacq.) Murrill                       | 2        |          |         | 2     |
| <i>Coltricia fonsecoensis</i> W.B. Cooke & Bonar                  | 4        | 2        | 7       | 13    |
| <i>Coltricia minor</i> Y.C. Dai                                   |          | 1        |         | 1     |
| <i>Coltricia montagnei</i> (Fr.) Murrill                          |          | 1        |         | 1     |
| <i>Coltricia sideroides</i> (Lév.) Teng                           | 2        |          |         | 2     |
| <i>Coltricia stuckertiana</i> (Speg.) Rajchenb. & J.E. Wright     | 1        |          |         | 1     |
| <i>Coltricia velutina</i> Baltazar & Gibertoni                    | 1        |          |         | 1     |
| <i>Hymenochaete adusta</i> (Lév.) Har & Pat.                      | 1        |          |         | 1     |
| <i>Hymenochaete carpatica</i> Pilát                               |          | 2        |         | 2     |
| <i>Hymenochaete damicornis</i> (Link) Lév.                        | 16       | 5        | 10      | 31    |
| <i>Hymenochaete iodina</i> (Mont.) Baltazar & Gibertoni           | 1        |          |         | 1     |
| <i>Hymenochaete innexa</i> G. Cunn.                               |          |          | 1       | 1     |
| <i>Hymenochaete luteobadia</i> (Fr.) Höhnelt & Litschauer         | 14       | 7        | 53      | 74    |
| <i>Hymenochaete microcycla</i> (Zipp. ex Lév.) Spirin & Miettinen |          |          | 1       | 1     |
| <i>Hymenochaete minuscula</i> G. Cunn.                            |          | 1        |         | 1     |
| <i>Hymenochaete reniformis</i> (Fr.) Lév.                         | 5        | 2        | 11      | 18    |
| <i>Hymenochaete setipora</i> (Berk.) S.H. He & Y.C. Dai           | 5        | 7        | 2       | 14    |
| <i>Inonotus perchocolatus</i> Corner                              |          |          | 1       | 1     |
| <i>Inonotopsis amazonicus</i> M.A Silva & M.A Jesus sp. nov.      |          | 2        |         | 2     |
| <i>Phylloporia fruticum</i> (Berk. & M.A. Curtis) Ryvarden        |          | 1        |         | 1     |
| <i>Phylloporia spathulata</i> (Hook.) Ryvarden                    | 1        | 1        | 3       | 5     |
| <i>Pseudoinonotus crustosus</i> (Speg.) Rajchenb. & Pildain       | 1        |          |         | 1     |
| <i>Pseudoinonotus dryadeus</i> (Pers.) T. Wagner & M. Fisch.      | 2        |          |         | 2     |
| Total   | 56       | 33       | 89      | 178   |

**Table legend:** Viruá National Park - **VNP**, Adolpho Ducke Florestal Reserve - **ADFR** and Tropical Silviculture Experimental Station (ZF-2) - **TSES-ZF2**

## Taxonomy

*Coltricia barbata* Ryvar den & de Meijer, Synopsis Fungorum 15: 46 (2002)

**Studied specimens:** — BRAZIL. State of Amazonas: Manaus, Tropical Silviculture Experimental Station (ZF-2), 2°35'00" S, 60°20'00" W–92m alt., 30 May 2017, *M.A. Silva MAS029* (INPA286747).

**Distribution:** — In Brazil, it is known in the States of Amazonas, Amapá, Pará, Paraná, Pernambuco, Rondônia, Rio de Janeiro and Rio Grande do Sul (Baltazar & Gibertoni 2009, Gomes-Silva & Gibertoni 2009; Gomes-Silva *et al.* 2009; Soares *et al.*, 2014; Xavier *et al.* 2018).

**Comments:** — This species has a wide distribution worldwide and in Brazil it is found in nine states (Baltazar *et al.* 2010). It is characterized by having oblong spores to ellipsoids, smooth and thin-walled non-amyloid, presenting the same pore color, such as described by the author (Ryvar den 2002).

*Coltricia fonsecoensis* W.B. Cooke & Bonar, Occasional Papers of the California Academy of Sciences 29: 3 (1961)

**Studied specimens:** — BRAZIL. State of Amazonas: Manaus, Tropical Silviculture Experimental Station (ZF-2), 2°35'00" S, 60°20'00" W–92m alt., 08 June 2016, *M.A. Silva MAS355/ MAS356* (INPA286847, INPA286848); Adolpho Ducke Florestal Reserve, 3°0'27.00" S, 59°56'22.92" O–92m atl., 22 April 2015, *M.A. Jesus CFL9902* (INPA286734), 19 May 2016, *M.A. Silva MAS358/ MAS257* (INPA286850, INPA286849), 13 February 2017, *M.A. Silva MAS359* (INPA286851), State of Roraima: Caracaraí, Viruá National Park, 1° 30' 36" N, 60° 42' 59" W–85m alt., 19 May 2016, *M.A. Silva MAS357/ MAS358* (INPA286849, INPA286850), 08 June 2016, *M.A. Silva MAS355/ MAS356* (INPA286847, INPA286848), 12 July 2017, *M.A. Silva MAS12811/ MAS12812* (INPA286901, INPA286902), 13 February 2017, *M.A. Silva MAS359/ MAS111* (INPA286851, INPA286773), 14 July 2017, *M.A. Silva MAS110* (INPA286772), 21 March 2018, *M.A. Silva MAS310/ MAS311* (INPA286830, INPA286831), 26 August 2018, *M.A. Silva MAS340* (INPA286844).

**Distribution:** — Costa Rica.

**Comments:** — Our species, just like that described by Ryvar den (2004), approaches *C. cinnamomea*, however, it differs for having more pores on the surface (6–8 per mm) and smaller spores (4-5×2-3,5 µm), in addition for having the double context divided by a black line. It is the first record for Brazil.

*Coltricia minor* Y.C. Dai, 2010

**Studied specimens:** — BRAZIL. State of Amazonas: Manaus, Tropical Silviculture Experimental Station (ZF-2), 2°35'00" S, 60°20'00" W–92m alt., 30 May 2017, *M.A Silva MAS021* (INPA286746).

**Distribution:** — China.

**Comments:** — This species is characterized by having a laterally stipitate basidioma, monomithic hyphal system, hyaline and yellowish ellipsoid basidiospores with thin and smooth walls, as described by Dai (2010a) but *C. minor* differs from other species within genus by its tiny basidiocarps. However, it presents a small difference in spore size which is a little bigger (6-7.0 x 4-4.5 µm). This is the first record for South America.

*Coltricia montagnei* (Fr.) Murrill, Mycologia 12 (1): 13 (1920)

**Studied specimens:** — BRAZIL. State of Roraima: Caracaraí, Viruá National Park, 1° 30' 36" N, 60° 42' 59" W–85m alt., 12 July 2017, *M. A. Silva MAS131* (INPA286792).

**Distribution:** — Brazil, Guyane and the United States of America. In Brazil, it is known in the States of Amazonas, Amapá, Pará, Paraná, Pernambuco, Rondônia, Rio de Janeiro and Rio Grande do Sul (Baltazar & Gibertoni 2009, Gomes-Silva & Gibertoni 2009; Gomes-Silva *et al.* 2009;

**Comments:** — Characterized by presenting large pores which can be confused with lamellae, for presenting small basidioma (Baltazar *et al.* 2010). It can be easily confused with *C. cinnamomea*. However, the size of the spores separates the species; *C. cinnamomea* (6.4–8.4 × 4.6–6.2 µm) has small spores. The analyzed species present spores that reach up to 10 µm.

*Coltricia sideroides* (Lév.) Teng, Zhong Guo De Zhen Jun [Fungi of China]: 759 (1963)

**Studied specimens:** — BRAZIL. State of Amazonas: Manaus, Adolpho Ducke Florestal Reserve, 3°0'27.00" S, 59°56'22.92" O–92m atl., 13 February 2017, *M. A. Silva & D.M. Couceiro MAS360* (INPA286852), 28 February 2018, *M. A. Silva MAS370* (INPA286862).

**Distribution:** — China

**Comments:** — This species is characterized by a reddish brown basidioma, small pores size (5–7 per mm) and differs from the other species in the genus by its subglobose spores (Ryvarden & Johansen 1980). On both specimens examined a black dark line is absent in the context, however, this division

does not occur in all studied specimens, so, it corroborates with the studies of Ryvarden & Johansen (1980).

*Coltricia stuckertiana* (Speg.) Rajchenb. & J.E. Wright, Folia Cryptogamica Estonica 33: 119 (1998)

**Studied specimens:** — BRAZIL. State of Amazonas: Manaus, Adolpho Ducke Florestal Reserve, 3°0'27.00" S, 59°56'22.92" O–92m atl., 24 February 2018, *M. A. Silva MAS140* (INPA286797).

**Distribution:** — Argentina and China

**Comments:** — Semicircular pileus velutinate surface to glabrous depending on how mature it could be, it can be recognized by the absence of setae, small pores and ellipsoid to ovoid basidiospores (3–5 × 2–3 µm) described by Rajchenberg & Wright (1998). There is a record of this species for Southern America (Argentina and Paraguay), in addition it is the first reference for Brazil.

*Coltricia velutina* Baltazar & Gibertoni, Mycologia 102 (6): 1258 (2010)

**Studied specimens:** — BRAZIL. State of Amazonas, Manaus: Adolpho Ducke Florestal Reserve, 3°0'27.00" S, 59°56'22.92" O–92m atl., 25 February 2018, *M. A. Silva MAS153* (INPA286800).

**Distribution:** — Brazil and China.

**Comments:** — Its basidioma has semicircular upper surface velutinate and thinn margin, in addition, it has dextrinoid spores. This species is very similar to *C. barbata*, differing in the shape and size of the spores (5–7.0 × 4.3–5µm) and the negative reaction in Melzer (Baltazar & Gibertoni 2010).

*Hymenochaete adusta* (Lév.) Pat., Journal de Botanique (Morot) 17: 7 (1903)

**Studied specimens:** — BRAZIL. State of Amazonas: Manaus, Adolpho Ducke Florestal Reserve, 3°0'27.00" S, 59°56'22.92" O–92m atl., 20 July 2015, *M. A. Jesus CFL12435* (INPA286737).

**Distribution:** — China and Thailand.

**Comments:** — *H. adusta* is characterized by dark brown pileated basidioma, short setae and small basidiospores shape (3×2.5 µm). It is very similar to *H. cacao* (Berk.) Berk (Dai 2010b), also this species is very common in tropical China (Zhang & Dai 2005). *H. adusta* is the first record for Brazil.

*Hymenochaete carpatica* Pilát, Hedwigia 70: 123 (1930)

**Studied specimens:** — BRAZIL. State of Amazonas: Manaus, Tropical Silviculture Experimental Station (ZF-2), 2°35'00" S, 60°20'00" W–92m alt., 03 March 2016, *M. A. Silva & K. S. Cruz* MAS363 (INPA286855), 07 June 2016, *M. A. Silva & M. A. Jesus* MAS362 (INPA286854).

**Distribution:** — England, Germany and Poland.

**Comments:** — *Hymenochaete carpatica* has discrete basidioma with a color that is easily confused with the substrate (dark brown), which is difficult to be observed too. This species has a restricted distribution, which is probably due to its difficult visualization in field (Baici & Léger 1988).

*Hymenochaete damicornis* (Link) Lév., Annales des Sciences Naturelles Botanique 5: 151 (1846)

**Studied specimens:** BRAZIL. State of Amazonas: Manaus, Tropical Silviculture Experimental Station (ZF-2), 2°35'00" S, 60°20'00" W–92m alt., 07 June 2016, *M.A. Silva & K.S. Cruz* MAS385 (INPA286877), 29 May 2017, *M.A. Silva & K.S. Cruz* MAS007 (INPA286745), 30 May 2017, *M.A. Silva & K.S. Cruz* MAS030 (INPA286748), 31 May 2017, *M.A. Silva & K.S. Cruz* MAS051/MAS038 (INPA286754, INPA286752); Adolpho Ducke Florestal Reserve, 3°0'27.00" S, 59°56'22.92" O–92m atl., 29 January 2015, *M.A. Silva & D.M. Couceiro* MAS375 (INPA286867), 19 May 2016, *M.A. Silva & D.M. Couceiro* MAS373 (INPA286865), 23 May 2016, *M.A. Silva* MAS381 (INPA286873), 07 February 2017, *M.A. Silva & D.M. Couceiro* MAS377 (INPA286869), 13 February 2017, *M.A. Silva & D.M. Couceiro* MAS376/MAS378/MAS374 (INPA286868 (INPA286870, INPA286866), 05 April 2017, *M.A. Silva & D.M. Couceiro* MAS383 (INPA286875), 28 April 2017, *M.A. Silva & D.M. Couceiro* MAS379 (INPA286871), 23 May 2017, *M.A. Silva & D.M. Couceiro* MAS382 (INPA286874), 27 April 2017, *M.A. Silva & D.M. Couceiro* MAS380 (INPA286872), 19 May 2017, *M.A. Silva & D.M. Couceiro* MAS384 (INPA286876), 24 February 2018, *M.A. Silva & K.S. Cruz* MAS386/MAS163/MAS135/MAS139 (INPA286878, INPA286804, INPA286794, INPA286796). State of Roraima: Caracaraí, Viruá National Park, 1° 30' 36" N, 60° 42' 59" W–85m alt., 6 May 2017, *M.A. Silva & K.S. Cruz* MAS178 (INPA286814), 10 July 2017, *M.A. Silva & K.S. Cruz* MAS064 (INPA286756), 11 July 2017, *M.A. Silva* MAS454 (INPA286890) 12 July 2017, *M.A. Silva & K.S. Cruz* MAS129 (INPA286790), 13 July 2017, *M.A. Silva & K.S. Cruz* MAS107 (INPA286769), 05 October 2017, *M.A. Silva* MAS457 (INPA286893), 06 October 2017, *M.A. Silva* MAS192

(INPA286821), 22 August 2018, *M.A. Silva MAS192/MAS334* (INPA286836, INPA286842), 24 August 2018, *M.A Silva MAS327* (INPA286839).

**Distribution:** — Mexico and Brazil

**Comments:** — This species is characterized by flat pileated basidioma with a leathery to papyraceous consistency. The microscopic characters such as the setae that are larger than 100µm, and the hyaline globose spores that reach up to 5µm, are also like those described by Azevedo & Guerreiro (1993).

*Hymenochaete iodina* (Mont.) Baltazar & Gibertoni, *Journal of the Torrey Botanical Society* 139 (4): 432 (2012)

**Studied specimens:** — BRASIL. State of Amazonas: Manaus, Adolpho Ducke Florestal Reserve, 3°0'27.00" S, 59°56'22.92" O–92m atl., 15 July 2018, *R.S. Peres CFL12687* (INPA286740).

**Distribution:** — Brazil.

**Comments:** — *Hymenochaete iodina* is characterized by its finely pileal surface velutinate, angular pores to hydroids along of age, 36 per mm. Double context with the presence of a black. Monomitic hyphal system, presence of subulated setae and hyaline spores 3.5-4.0 x 2.5-3.8µm. This species is similar to *H. cyclolamellata* which differs by the size of the basidiospores, in *H. iodine* the size of spores is 2.0–2.5 µm and in *H. cyclolamellata* is 1.5–2.0 µm (Ryvarden 2004).

*Hymenochaete innexa* G. Cunn., *Transactions and Proceedings of the Royal Society of New Zealand* 85 (1): 47 (1957)

**Studied specimens:** — BRAZIL. State of Roraima: Caracaraí, Viruá National Park, 06. X. 2017, *M. A. Silva & K. S. Cruz MAS203* (INPA286823).

**Distribution:** — New Zeland, India and Taiwan.

**Comments:** — Morphologically, the specimen examined is similar to those described in *Hymenochaete corrugata* and *H. separata*, but both differing only microscopically by the sizes of setae (40–60 × 7–11.0 µm) and spores (4–5 × 2–2.3µm) (Job 1990). It also resembles to *H. koeljalgiise*, differing by absence of hyphal layer and its smaller setae. It is widely distributed over Asia, Australasia, and Oceania and, therefore, this is the first reference for the Americas.

*Hymenochaete luteobadia* (Fr.) Höhn. & Litsch., *Sitzungsberichte der Kaiserlichen Akademie der Wissenschaften Math.-natur. Klasse Abt. I* 116: 754 (1907)

**Studied specimens:** BRAZIL. State of Amazonas: Manaus, Tropical Silviculture Experimental Station (ZF-2), 2°35'00" S, 60°20'00" W–92m alt., 23 April 2014, *M.A. Jesus CFL8776* (INPA286733), 03 March 2016, *M.A. Silva & M.A Jesus MAS393* (INPA286884), 07 July 2016, *M.A. Silva & M.A. Jesus MAS394* (INPA286885), 08 July 2016, *M.A. Silva & D.M. Couceiro MAS395* (INPA286886), 29 May 2017, *M.A. Silva MAS001* (INPA286742), 30 May 2017, *M.A. Silva MAS032* (INPA286750), 31 May 2017, *M.A. Silva MAS039* (INPA286753); Reserva Florestal Adolpho Ducke, 3°0'27.00" S, 59°56'22.92" O–92m atl., 19 May 2016, *M. A. Silva & D. M. Couceiro MAS12853/MAS11948* (INPA286909, INPA286895), 23 May 2016, *M. A. Silva MAS396* (INPA286887), 13 February 2017, *M. A. Silva & D. M. Couceiro MAS398/MAS11796* (INPA286889, INPA286894), 28 April 2017, *M. A. Silva & D. M. Couceiro MAS12269/MAS12270* (INPA286896, INPA286897), 19 November 2017, *M. A. Silva & D. M. Couceiro MAS392* (INPA286883), 16 February 2018, *M. A. Silva MAS397* (INPA286888), 25 February 2018, *M. A. Silva MAS389/MAS455* (INPA286810, INPA286881), 14 July 2018, *M. A. Silva MAS391* (INPA286882), 15 July 2018, *M. A. Silva & R. S. Peres MAS387/388* (INPA286879, INPA286880). State of Roraima: Caracaraí, Viruá National Park, 1° 30' 36" N, 60° 42' 59" W–85m alt., 10 July 2017, *M. A. Silva & K. S. Cruz MAS061/MAS067/MAS071/MAS084*(INPA286755,INPA286757, INPA286758, INPA286766), 11 July 2017,*M. A. Silva & K. S. Cruz MAS074/MAS075/MAS077/MAS117/ MAS1 22/MAS126/ MAS12807*(INPA286759, INPA286760, INPA286761, INPA286762, INPA286778, INPA286783, INPA 286787, INPA286900), 12 July 2017, *M. A. Silva & K. S. Cruz MAS116/MAS118/MAS119/MAS123/MAS124/MAS125/MAS127/MAS213/MAS214/ INPA 286777, INPA286779, INPA286780, INPA286781, INPA286782, INPA286784, INPA286785, INPA286786, INPA286788, INPA 286825, INPA286826*), 13 July 2017, *M. A. Silva & K. S. Cruz MAS079/MAS106/MAS108* (INPA286763, INPA286768, INPA286770), 03 October 2017, *M. A. Silva & K. S. Cruz MAS136/MAS164/MAS179* (INPA286795, INPA286805, INPA286815), 04 October 2017, *M. A. Silva & K. S. Cruz MAS171/MAS173/MAS177/MAS456* (INPA286807, INPA286809, INPA286813, INPA286892), 05 October 2017, *M. A. Silva & K. S. Cruz MAS159/MAS172/MAS180* (INPA286802, INPA286808, INPA286816), 06 October 2017, *M. A. Silva & K. S. Cruz MAS188/MAS189/MAS190/MAS193* (INPA286818, INPA286819, INPA286820, INPA286822), 21 August 2018, *M. A. Silva & K. S. Cruz MAS304/MAS309/MAS326/MAS12813* (INPA286828, INPA286829, INPA286838, INPA286903), 22 August 2018, *M. A. Silva & K. S. Cruz MAS314/MAS318/MAS325* (INPA286833, INPA286834, INPA286837), 23 August 2018, *M. A. Silva*

& K. S. Cruz MAS330 (INPA286840), 26 August 2018, M. A. Silva & K. S. Cruz MAS339/MAS341/MAS342 (INPA286843, INPA286845, INPA286846).

**Distribution:** — Argentina, Costa Rica, Brazil, Nicaragua, Somalia and Uganda

**Comments:** — *Hymenochaete luteobadia* presents effuse-reflex basidioma, with irregular borders. Its setae projecting up to 30-35 µm above the hymenium which can be seen by the naked eye. In relation to the microscopic structures, they have longitudinally parallel hyphae with many ends encrusted with small crystals, basidiospores oblong-ellipsoid, one side flattened (4-5.0 x 2-2.5 µm) like those observed by Reeves & Welden (1967). This species is represented by the greater number of specimens collected in this study, so it was the most representative species of this work so far.

*Hymenochaete microcycla* (Zipp. ex Lév.) Spirin & Miettinen, Fungal Systematics and Evolution 4: 86 (2019)

**Studied specimens:** — BRAZIL. State of Roraima: Caracaraí, Viruá National Park, 1°30'36" N, 60°42'59" W–85m alt., 04 October 2017, M.A Silva & K.S. Cruz MAS152 (INPA286799).

**Distribution:** — Netherlands, Brazil, Colombia and China (as *Cyclomyces tabacinus*).

**Comments:** — Morphologically, *Hymenochaete microcycla* also resembles *C. setiporus*, but differs in spore, in *C. setiporus* is ellipsoid while the *H. microcycla* is subglobose. Their basidioma can be confused with those that described in the genus *Inonotus*, However, its basidioma is more fragile and a double context. *H. microcycla* is the first reference for the Amazon region. It is the first reference for the Amazon region.

*Hymenochaete minuscula* G. Cunn., Transactions and Proceedings of the Royal Society of New Zealand 85 (1): 48 (1957)

**Studied specimens:** — BRAZIL. State of Amazonas: Manaus, Tropical Silviculture Experimental Station (ZF-2), 2°35'00" S, 60°20'00" W–92m alt., 02 March 2016, M.A. Silva & K.S. Cruz & D.M. Couceiro MAS367 (INPA286859).

**Distribution:** — Jamaica, Colombia, Venezuela, Argentina, New Zealand and Brazil are not yet described in the Amazon region.

**Comments:** — This specie is very similar to *Hymenochaete luteobaldia* which, however, has fusiform setae (25-40×5-8.0µm), but our specimens differs from this, by the absence of the encrusted



hyphae. Also, our specimens resemble *H. tenuis*, which setae is laced and non-fusiform as such in *H. minuscula*, as well crystalline matter absent in context. *H. minuscula* has one of the smallest basidioma (14 x 3.0 cm) described in the genus, and it is very fragile with thin margin, according to Job (1990).

***Hymenochaete reniformis*** (Fr.) Lév., Annales des Sciences Naturelles Botanique 5: 151 (1846)

**Studied specimens:** — BRAZIL. State of Amazonas: Manaus, Tropical Silviculture Experimental Station (ZF-2), 2°35'00" S, 60°20'00" W–92m alt., 07 July 2016, M.A. Silva & M.A. Jesus MAS12616/MAS12617 (INPA286898, INPA286899); Adolpho Ducke Florestal Reserve, 3°0'27.00" S, 59°56'22.92" O–92m atl., 05 May 2016, M.A. Silva (12852), 05 May 2016, M.A. Silva MAS12852 (INPA286908), 24 February 2018, M.A. Silva MAS141/MAS175 (INPA286798, INPA286811), 25 February 2018, M.A. Silva MAS162/MAS169 (INPA286803, INPA286806). State of Roraima: Caracaraí, Viruá National Park, 1°30'36" N, 60°42'59" W–85m alt., 11 July 2017, M.A. Silva & K.S. Cruz MAS081 (INPA286764), 12 July 2017, M.A. Silva & K.S. Cruz MAS128/MAS130 (INPA286789, INPA286791), 13 July 2017, M.A. Silva & K.S. Cruz MAS100/MAS109/MAS113/MAS115 (INPA286767, INPA286771, INPA286775, INPA286776), 14 July 2017, M.A. Silva & K.S. Cruz MAS112 (INPA286774), 05 October 2017, M.A. Silva & K.S. Cruz MAS155/MAS176 (INPA286801, INPA286812), 21 August 2017, M.A. Silva & K.S. Cruz MAS333 (INPA286841).

**Distribution:** — Mexico, Belize, Costa Rica, Guatemala, Honduras, Panama, El Salvador, Caribbean, Cuba, Dominican Republic, Guadalupe, Jamaica, Puerto Rico, Trinidad, Argentina, Bolivia, Brazil, Colombia, French Guiana, Guyana, Paraguay, Peru, Suriname and Venezuela.

**Comments:** — Differently from *Hymenochaete damicornis*, the specimens studied have smaller setae ranging from 40 to 70 µm, and larger spores 5-6 x 7-8 µm, usually pilei with growing together to confluent.

***Hymenochaete setipora*** (Berk.) S.H. He & Y.C. Dai, Fungal Diversity 56: 90 (2012)

**Studied specimens:** — BRASIL. State of Amazonas, Manaus: Tropical Silviculture Experimental Station (ZF-2), 2°35'00" S, 60°20'00" W–92m alt., 17 December 2012, M.A. Jesus CFL7784a (INPA286732), 08 June 2016, M. A. Silva MAS369 (INPA286861), 07 December 2016, M.A. Jesus CFL12641 (INPA286738), 29 May 2017, M.A. Silva MAS004 (INPA286744), 30 May 2017, M.A.

*Silva MAS031/MAS034* (INPA286749, INPA286751), 31 May 2017, *M.A. Silva MAS003* (INPA286743); Adolpho Ducke Florestal Reserve, 3°0'27.00" S, 59°56'22.92" O–92m atl., 20 June 2015, *M.A. Jesus & M. Camossola CFL10622/CFL10430* (INPA286725, INPA286735), 17 November 2017, *M.A. Silva & K.S. Cruz MAS12847* (INPA286907), 14 June 2018, *R.S. Peres & K.S. Cruz CFL12691/CFL12689* (INPA286727, INPA286741). State of Roraima: Caracaráí, Viruá National Park, 1° 30' 36" N, 60° 42' 59" W–85m alt., 12 June 2017, *M.A. Silva & K. S. Cruz MAS212/MAS215* (INPA286824, INPA286827).

**Distribution:** — China.

**Comments:** — Differs from other species in the group for presenting large pores (2-3 per/mm) (Dai 2010b) in addition, it not presenting figures as in the different Chinese species that occur with species analyzed in Asia (Dai 2010b; Ryvar den & Johansen 1980). The analyzed specimens present a small variation in spore size, reaching 5µm, however, these spores are rare. There is still no reference to *H. setiporus* for the Americas.

*Inonotus perchocolatus* Corner, Nova Hedwigia, Beih. 101: 123, 1991

**Studied specimens:** — BRAZIL. State of Roraima: Caracaráí, Viruá National Park, 1° 30' 36" N, 60° 42' 59" W–85m alt., 11 July 2017, *M.A. Silva MAS083* (INPA286765).

**Distribution:** — Singapura.

**Comments:** — It has a resupinated, solitary and annual basidioma, without context and monomithic hyphal system, and setoid hyphae. The microscopic characteristics, mainly spore size, are similar to those described to *I. perchocolatus*. This species is recorded to Singapore only, being the first for the America.

*Inonotopsis amazonicus* M.A. Silva & M.A. De Jesus, sp. nov. (Fig. 1)

**Type:** — BRAZIL. State of Amazonas: Manaus, Tropical Silviculture Experimental Station (ZF-2), 2°35'00" S, 60°20'00" W–92m alt., 03 March 2016, *M.A. Silva & D.M. Couceiro MAS364/MAS368* (INPA286856, INPA286860)

**Etymology:** — The species epithet refers to the region where it was collected.

**Description:** — Annual basidioma, resupinated, adnate, strongly attached to the substrate, reaching up to 40 cm in length and 15 cm wide, thickness of 0.05cm velvety texture, well-delimited margin

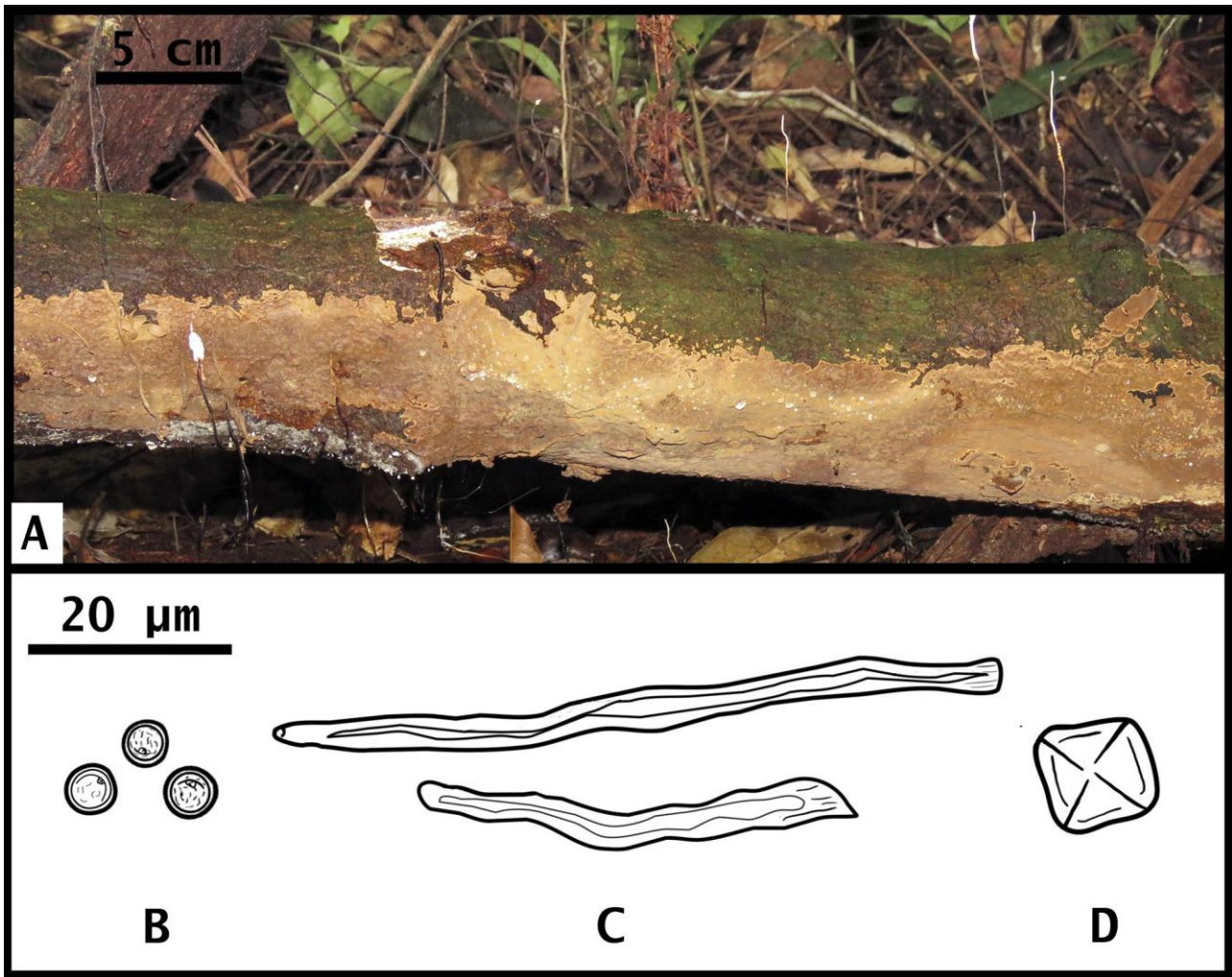
yellowish brown to little more reddish than the rest of the basidioma; in the hymenial surface, color varies from cinnamon brown to golden brown (Y<sub>50</sub> M<sub>50</sub> C<sub>20</sub>); homogeneous context, cinnamon brown (Y<sub>70</sub> M<sub>70</sub> C<sub>50</sub>), small pores 7-8 per mm; identical monomitic hyphal system in the context and tubes; yellowish generative hyaline hyphae, without incrustations, with simple septa, thin walls without branches (3.0-3.5 mm wide). No setae and cystidioles, subglobose basidium with 4 sterigma, hyaline basidiospores, thin-walls, subglobose to globose, slightly obvoid (2.8-3.0 x 2.0-2.3 µm), no reacting in CB or Melzer, but it stained only with KOH and absent chlamydospore.

**Comments:** — Comparing, the *Hymenochatacae* monomitics species with our specimen the genus that fits it is the *Inonotopsis*, described by Dai (2010b) as well annual resupinate basidioma, monomitic hyphal system, generative hyphae simple septate, ellipsoid thin-walled basidiospores, hyaline. It has a hyaline spore like the genus *Phellinus*, however, *Inonotopsis* differs from this genus by its dimitic hyphal system and setae absence, as well *Fuscuporia* by hyphal system dimitic and no setae. The last *Inonotopsis* can be distinguished from *Inonotus* by its spores with thin walls and hyaline according to Dai (2010b). So far, there are only two species, *I. exilispora* (Y.C Dai & Niemelä) and *I. subiculosa* (Peck) Parmasto have been described yet.

*Inonotopsis amazonicus* differs macroscopically from *I. exilispora* that has not a gray surface and its pores are smaller, microscopically they have similar hyphae differing in the much larger spores that can reach up to 8.0 µm in length in *I. exilispora*, as well, *I. exilispora* and *I. subiculosa* have larger pores (2–4 per mm), and larger and more globose spores (5.9–) 6.1–7.8 (–8) × (3.8–) 4–5.1 (–5.5 µm) Dai (2010b), both species differs from *I. amazonicus* proposed here by spores that reaches up 3.5 µm. We believe that these characteristics provide support to propose a new species for science.

**Habitat, phenology and conservation status:** — dead woodtrunk in decomposition

**Distribution:** — First world reference.



**FIGURE 1.** *Inonotopsis amazonicus*. A. Basidioma; B. Basidiospores; C. Generative hyphae; D. Crystal. Photography by M.A. Silva. and drawings by F.F.C. Magalhães.

*Phylloporia fruticum* (Berk. & M.A. Curtis) Ryvardeen, Norwegian Journal of Botany 19: 235 (1972)

**Studied specimens:** — Brazil. State of Amazonas: Tropical Silviculture Experimental Station (ZF-2), 2°35'00" S, 60°20'00" W–92m alt., 02 March 2016, M.A. Silva MAS371 (INPA286863).

**Distribution:** — Australia, Brazil, Cameron, Mexico.

**Comments:** — Its large pores (2-4 per mm) are easily recognized when compared to other species of genus (Ryvardeen & Johansen 1980).

*Phylloporia spathulata* (Hook.) Ryvardeen, Synopsis Fungorum 5: 196 (1991)

**Studied specimens:** — Brasil. State of Amazonas: Tropical Silviculture Experimental Station (ZF-2), 2°35'00" S, 60°20'00" W–92m alt., 24 April 2014, *M.A. Jesus & J.F. Borel CFL10442* (INPA286736); Adolpho Ducke Florestal Reserve, 3°0'27.00" S, 59°56'22.92" O–92m atl., 04 July 2001, *M.A. Jesus MAS3033* (INPA286728). State of Roraima: Caracaraí, Viruá National Park, 1° 30' 36" N, 60° 42' 59" W–85m alt., 21 August 2018, *M.A. Silva MAS312/MAS372* (INPA286832, INPA286864), 22 August 2018, *M.A. Silva MAS320* (INPA286835).

**Distribution:** — Brazil, Gabon, Japan, Mexico, Peru.

**Comments:** — This species is characterized by the annual, stipitate basidioma, depressed, duplex context, ellipsoid basidiospores, pale yellow (4-4.5 x 3-3.5 µm). *P. spathulata* is similar to *Coltricia fonsecoensis*, differing in the cap shape and depressed, and infundibuliform in *C. fonsecoensis* (Gomes-Silva *et al.* 2012).

*Pseudoinonotus crustosus* (Speg.) Rajchenb. & Pildain, *Mycologia* 107 (4): 763 (2015)

**Studied specimens:** — BRAZIL. State of Amazonas: Manaus, Adolpho Ducke Florestal Reserve, 3°0'27.00" S, 59°56'22.92" O–92m atl., 16 February 2016, *M.A. Silva MAS162* (INPA286817).

**Distribution:** — Argentina.

**Comments:** — The studied specimen has ellipsoid, hyaline and thick-walled basidiospores and a cyanophilic reaction, straight ventrose setae with thick walls, without inlay at the apex. There is already a reference of this species for Argentina, but for Brazil this is the first record.

*Pseudoinonotus dryadeus* (Pers.) T. Wagner & M. Fisch., *Mycological Research* 105 (7): 781 (2001)

**Studied specimens:** — BRAZIL. State of Amazonas: Manaus, Adolpho Ducke Florestal Reserve, 3°0'27.00" S, 59°56'22.92" O–92m atl., 16 February 2016, *M.A. Silva & D.M. Couceiro MAS366* (INPA 286858), 23 May 2016, *M.A. Silva & D.M. Couceiro MAS365* (INPA286857).

**Distribution:** — Ungria, Austria, Germany, Inland, Ireland.

**Comments:** — Its usually solitary basidioma, ungluate, up to 11 x 19 x 9 cm, upper surface can vary from yellow to some shades of brown. The specimens analyzed have dark brown upper surface with many cracks. It has a Pantropical distribution, but no records for Brazil yet.

**Dichotomous key for *Hymenochaetaceae* monomitic species from Amazon region**

1. Species with stipitate, pileate basidioma.....2  
 - Species with, effused-reflexed or ressupinated basidioma.....20
2. Basidioma with poroid hymenial surface.....3  
 - Basidioma with smooth or poroid hymenial surface.....*Hymenochaete*
3. Basidioma growing on soil.....*Coltricia*  
 - Basidioma growing on decomposing wood.....*Phylloporia*
4. Small pores 6-9 per mm.....5  
 - Large pores equal or smaller than 4 pores/mm.....*C. minor*
5. Small basidiospores (4-5 $\mu$ m) .....6  
 - Large basidiospores (5-7  $\mu$ m) .....7
6. Homogeneous context.....*C. stuckertiana*  
 - Double context.....*C. fonsecoensis*
7. Globose to subglobose basidiospores, IKB<sup>-</sup> .....8  
 - Subglobose dextrinoid basidiospores.....*C. velutina*
8. Globose basidiospores.....*C. barbata*  
 - Subglobose basidiospores.....*C. sideroides*
9. Double context splitted by a black stripe line..... *P. spathulata*  
 - Homogeneous context.....*P. frutica*
10. Poroid hymenial surface.....11  
 - Smooth hymenial surface.....13
11. Small pores >3 per mm.....12  
 - Large pores 1-3 per mm.....*H. microcycla*
12. Hymenial surface with 3-6 per mm, subglobose basidiospores..... *H. iodina*  
 - Hymenial surface with 7-9 per mm, elliptical basidiospores.....*H. setipora*
13. Basidiomata stipitate.....14  
 - Piled basidioma, ressupinated to effused-reflexed.....15
14. Larger setae (70-150 x 5-8  $\mu$ m) .....*H. damicornes*  
 - Smaller setae (40-70 x 8-15  $\mu$ m) .....*H. reniformis*
15. Setae 20-45 x 5-8  $\mu$ m.....*H. adusta*

|   |                               |
|---|-------------------------------|
| - Larger setae.....   | 16                            |
| 16. Setae 30-60 x 4-8 $\mu\text{m}$ , hyphae with incrustations.....                | <i>H. luteobaldia</i>         |
| - Hyphae with no incrustations.....   | 17                            |
| 17. Context without crystals.....   | <i>H. innexa</i>              |
| - Context with crystals dispersed in hyphae.....                                    | 18                            |
| 18. Setae 40-65 x 5-8 $\mu\text{m}$ , basidiospores 4-5x2,25 $\mu\text{m}$ .....    | <i>H. minuscula</i>           |
| - Setae 50-90 x 6-9 $\mu\text{m}$ , basidiospores 5-7x3-4 $\mu\text{m}$ .....       | <i>H. carpatica</i>           |
| 19. Dextrinoid basidiospores.....   | <i>Pseudoinonotus</i>         |
| - Not dextrinoid basidiospores.....   | 21                            |
| 20. Globose, hyaline, thin-walled basidiospores (6,5-9x5,5-8,5 $\mu\text{m}$ )..... | <i>P. crustosus</i>           |
| - Ellipsoids to obvoid basidiospores (6-12 x 6-7,5 $\mu\text{m}$ ) .....            | <i>P. dryadeus</i>            |
| 21. Presence of setae.....  | <i>Inonotus perchocolatus</i> |
| - Absence of setae.....   | <i>Inonotopsis amazonicus</i> |

## Discussion

Of all species of *Hymenochaetaceae* listed above, five of them are the firstly records for the Amazon region such as *Coltricia velutina*, *Hymenochaete microcycla*, *H. carpatica*, *H. minuscula* and *Phylloporia fruticum*. As well as new records for the country including, *Coltricia stuckertiana*, *Hymenochaete adusta*, *Pseudoinonotus crustosus* and *P. dryadeus*. In addition, *Coltricia fonsecoensis*, *C. minor* and *C. sideroides* can be reported as new for South America, and three new references for the Americas, *Hymenochaete setipora*, *H. innexa* and *Inonotus perchocolatus*. and *Inonotopsis amazonicus* are related as new recorded specie for science.

Lastly, the diversity of 24 species of *Hymenochaetaceae* monomitic hyphal system is greater in the Brazilian Amazon region than the 16 related species of Hymenochetaceae by Gomes-Silva *et al.* (2012) also 10 from *Coltricia* reported by Baltazar *et al.* (2010).

This highly specified diversity of *Hymenochaetaceae* monomitic hyphal system suggests that Amazon forest is likely to support a highly specified significant group of fungi. Thus, this study contributes to the knowledge of the diversity of fungal species in the Brazilian Amazon region.

## Acknowledgment

We thank the Coordination for the Improvement of Higher Education Personnel (CAPES) for the granting of a doctoral scholarship and the PRÓ-AMAZÔNIA 3251/2013 project for financial support. We also thank Amazonas State University and the National Institute for research logistical support in Amazon.

## Bibliographic references

- Azevedo, C.P.L. & Guerrero, R.T. (1993) Estudo biossistemático de espécies do gênero *Hymenochaete* (Basidiomycetes) no Rio Grande do Sul. *Insula* 22: 143–176.
- Baici, A. & Léger, J.C. (1988) *Hymenochaete carpatica* Pilát collected in Switzerland. *Mycologia Helvetica* 3: 89–98.
- Baltazar J.M. & Gibertoni T.B. (2009) A checklist of the aphylophoroid fungi (Basidiomycota) recorded from the Brazilian Atlantic Forest. *Mycotaxon* 109: 439–442.
- Baltazar, J.M. (2010) *Inonotus* sl (Hymenochaetales) in the Brazilian herbaria FLOR and SP. *Sydowia* 62: 1–9.
- Baltazar, J.M., Ryvardeen, L. & Gibertoni, T.B. (2010) The genus *Coltricia* in Brazil: new records and two new species. *Mycologia* 102: 1253–1262.
- Campos, E.L., Cavalcanti, M.A.Q. (2000) Primeira ocorrência de *Phellinus mangrovicus* (Imaz.) Imaz. para o Brasil. *Acta botânica brasileira* 14: 263–265.
- Campos, E.L., Sotão, H.M.P., Cavalcanti, M.A.Q. & Luz, A.B. (2005) Basidiomycetes de manguezais da APA de Algodual-Maiandeuá, Pará, Brasil. *Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi* 1: 141–146.
- Cooke, W.B. & Bonar, L. (1961) Additional fungi from the Galápagos and other pacific coastal islands collected during the Templeton Crocker Expedition, 1932. *Occasional Papers of the California Academy of Sciences*. 29:1–5.



- Cunningham, G.H. (1957) Thelephoraceae of New Zealand. XIV. The genus *Hymenochaete*. *Transactions and Proceedings of the Royal Society of New Zealand* 85(1):1–51.
- Dai, Y.C., Cui, B.K., Yuan, H.S. & Li, B.D. (2007) Pathogenic wood-decaying fungi in China. *Forest Pathology* 37 (2): 105–120.
- Dai, Y.C. (2010a) *Coltricia* (Basidiomycota, *Hymenochaetaceae*) in China. *Sydowia* 62: 11–21.
- Dai, Y.C. (2010b) *Hymenochaetaceae* (Basidiomycota) in China. *Fungal Diversity* 45: 131–343.
- Dai, Y.C., Zhou, L.W., Cui, B.K., Chen, Y.Q. & Decock, C. (2010) Current advances in *Phellinus* sensu lato: medicinal species, functions, metabolites and mechanisms. *Applied microbiology and biotechnology* 87(5): 1587–1593.
- Flora do Brasil (2020) *Hymenochaetales* in Flora do Brasil 2020. Jardim Botânico do Rio de Janeiro, Br. Available from: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB136512/> (Accessed: 12 Jun 2020).
- Fries, E.M. (1830) *Eclogae fungorum, praecipue ex herbarus germanorum de scriptorum*. *Linnaea*. 5:497–553
- Gilbertson, R.L. & Ryvarden, L. (1986) *North American Polypores. Vol. 1*. Fungiflora, Oslo, Norway, 433 pp.
- Gilbertson, R.L. & Ryvarden, L. (1987) *North American Polypores. Vol. 2*. Fungiflora, Oslo, Norway, 452 pp.
- Gomes-Silva, A.C., Ryvarden, L. & Gibertoni, T.B. (2009) New and interesting species of *Hymenochaetaceae* from the Brazilian Amazonia. *Mycological progress* 8: 273–279.
- Gomes-Silva, A.C.; Baltazar, J.M. & Gibertoni, T.B. (2012) *Coltricia* and *Hymenochaete* (*Hymenochaetaceae*) from the Amazonia and the Atlantic Forest, Brazil: One new combination and new records. *Journal of the Torrey Botanical Society*. 139(4):428–436.
- Gomes-Silva, A.C., Ryvarden, L. & Gibertoni, T.B. (2012). Two new species of *Phellinus* sl from the Brazilian Amazonia. *Phytotaxa* 67 (1): 55–60.

- Hariot, P. & Patouillard, N. (1903) Quelques Champignons de la Nouvelle Calédonie, de la collection du Muséum. *Journal de Botanique (Morot)*. 17:6–15.
- Hattori, T.; Sakayaroj, J.; Jones, E.G.B; Suetrong, S; Preedanon, S; Klayuban, A. (2014) Three species of Fulvifomes (Basidiomycota, Hymenochaetales) associated with rots on mangrove tree *Xylocarpus granatum* in Thailand. *Mycoscience*. 55(5): 344–354.
- He, S.H. & Dai, Y.C. (2012) Taxonomy and phylogeny of *Hymenochaete* and allied genera of *Hymenochaetaceae* (Basidiomycota) in China. *Fungal Diversity* 56:77–93.
- Höhnelt, F. von. & Litschauer, V. (1907) Beiträge zur Kenntnis der Corticieen: II. Sitzungsberichte der Kaiserlichen Akademie der Wissenschaften Math.-naturw. Klasse Abt. I. 116:739–852.
- Jesus, M.A. (1995) *Contribution to the Knowledge of wood-rotting fungi in Brazil. I. Occurrence and distribution of fungi on different substrates from the Manaus region, Amazonas state*. 26th Annual Meeting Helsingør, Denmark, 21 pp.
- Jesus, M.A. (1996) Contribution to the knowledge of wood-rotting fungi in Brazil. II. Check-list of fungi from Maracá Island, Roraima State. *Mycotaxon* 57: 323–328.
- Job, D.J. (1990) Le genre *Hymenochaete* dans les zones tempérées de l'hémisphère sud. *Mycologia Helvetica* 4:1–51.
- Larsson, K.H., Parmasto, E., Fischer, M., Langer, E., Nakasone, K.K. & Redhead, S.A. (2006) Hymenochaetales: a molecular phylogeny for the hymenochaetoid clade. *Mycologia* 98(6): 926–936.
- Léveillé, J.H. (1846) Descriptions des champignons de l'herbier du Muséum de Paris. *Annales des Sciences Naturelles Botanique*. 5:111–167.
- Miettinen, O.; Larsson, K.H. & Spirin, V. (2019) *Hydnoporia*, an older name for *Pseudochaete* and *Hymenochaetopsis*, and typification of the genus *Hymenochaete* (Hymenochaetales, Basidiomycota). *Fungal Systematics and Evolution* 4:77–96.
- Murrill, W.A. (1904) A new polyporoid genus from South America. *Torreyia* 4:141–142.
- Parmasto, E., Saar, I., Larsson, E. & Rummo, S. (2014) Phylogenetic taxonomy of *Hymenochaete* and related genera (Hymenochaetales). *Mycological Progress* 13(1): 55–64.

- Pilát, A. (1930) Monographie der europäischen Stereaceen. *Hedwigia*. 70:10–132.
- Patouillard, N. (1900) Essai taxonomique sur les familles et les genres des Hyménomycètes 1-184.
- Rajchenberg, M. & Wright, J.E. (1998) Two interesting polypore species (Hymenochaetales) from Argentina. *Folia Cryptogamica Estonica* 33: 119–122.
- Rajchenberg, M. & Robledo, G. (2013) Pathogenic polypores in Argentina. *Forest Pathology* 43(3): 171–184.
- Rajchenberg, M.; Pildain, M.B.; Bianchinotti, M.V. & Barroetaveña, C. (2015). The phylogenetic position of poroid *Hymenochaetaceae* (Hymenochaetales, Basidiomycota) from Patagonia, Argentina. *Mycologia*. 107(4): 754–767.
- Rajchenberg, M., Pildain, M.B., Madriaga, D.C., de Errasti, A., Riquelme, C., & Becerra, J. (2019) New poroid *Hymenochaetaceae* (Basidiomycota, Hymenochaetales) from Chile. *Mycological Progress* 18(6): 865–877.
- Robledo G, Urcelay C (2009) *Hongos de la madera en árboles nativos del centro de Argentina*. Universidad Nacional de Córdoba, Argentina, 210 pp.
- Ryvarden, L. (1972) A critical checklist of the Polyporaceae in tropical East Africa. *Norwegian Journal of Botany*. 19:229–238.
- Ryvarden, L. & Johansen, I.A. (1980) *Preliminary Flora of East Africa*. Fungiflora, Oslo, Norway, 636 pp.
- Ryvarden, L. (1991) Genera of polypores, nomenclature and taxonomy. *Synopsis Fungorum* 5:1–373.
- Ryvarden, L. & Gilbertson, R.L. (1993) European polypores. Part 1. *Synopsis Fungorum*. 6:1–387.
- Ryvarden, L. (2002) Studies in neotropical polypores 14. New species from the state of Paraná, Brasil. *Synopsis Fungorum* 15: 34–69.
- Ryvarden, L. & Meijer, A.A.R. (2002) Studies in Neotropical polypores 14: new species from the State of Paraná, Brazil. *Synopsis Fungorum* 15:34–69.

- Ryvarden, L. (2004) Neotropical Polypores. Part 1. Introduction, *Hymenochaetaceae* and *Ganodermataceae*. *Synopsis Fungorum* 19: 1–227.
- Ryvarden, L. (2005) The genus *Inonotus* a synopsis. *Synopsis fungorum*, 21: 1–149.
- Sotão, H.M.P.; Bononi, L.R. & Figueiredo, T. (1991) Basidiomycetes de manguezais da Ilha de Maracá. Amapá. *Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi: Série Botânica* 7: 109–114.
- Sotão, H.M.P. & Figueiredo, T.S. (1996) Utilização do fungo *Pycnoporus sanguineus* (L.: FR) MURR. na cerâmica do Maruanum, Amapá. *Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi: Série Botânica* 12 (1): 15–20.
- Sotão, H.M., Hennen, J.F., Gugliotta, A.D.M., Melo, O.A. & Campos, E.L. (1997) Os Fungos Basidiomycotina. Caxiuanã. *Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi*: 4: 213–219.
- Sotão, H.M.P., Gugliotta, A.M., Oliveira, A.P., Luz, A.B., & Melo, O.A. (2002) *Fungos poliporóides. Caxiuanã, populações tradicionais, meio físico e diversidade biológica*. *Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi*, 433–444 pp.
- Sotão, H.M., Campos, E.L., Gugliotta, A.M. & Costa, S.P.S.E. (2003) *Fungos macroscópicos: Basidiomycetes. Os manguezais da costa norte brasileira*. Fundação Rio Bacanga, São Luís, 45–59 pp.
- Teng, S.C. 1963. *Zhong Guo De Zhen Jun Fungi of China*. :1-808
- Wagner, T. & Fischer, M. (2001) Natural groups and a revised system for the European poroid Hymenochaetales (Basidiomycota) supported by nLSU rDNA sequence data. *Mycological Research* 105:773–782.
- Wagner, T. & Ryvarden, L. (2002) Phylogeny and taxonomy of the genus *Phylloporia* (Hymenochaetales). *Mycological Progress* 1: 105–116.
- Wu, S.H., Dai, Y.C., Hattori, T., Yu, T.W., Wang, D.M., Parmasto, E., Chang, H.Y. & Shih, S.Y. (2012) Species clarification for the medicinally valuable ‘sanghuang’ mushroom. *Botanical Studies* 53: 135–149.

Yuan, H.S. & Dai, Y.C. (2008) Two species in *Hymenochaetaceae* (Basidiomycota) new to China. *Mycosystema* 27(1): 151–155.

Zhang, X.Q, Dai, Y.C. (2005) *Flora fungorum sinicorum, Hymenochaetaceae*. Science Press, Beijing, China, 205 pp.

**5. MANUSCRITO SUBMETIDO (REVISTA ACTA AMAZONICA) A PRELIMINARY SURVEY OF *Phellinus* (*HYMENOCHAETACEAE*) IN THREE CONSERVATION AREA OF THE AMAZON BRAZILIAN RAINFOREST**

Maria Aparecida da SILVA<sup>1\*</sup>, Maria Aparecida de JESUS<sup>2</sup>, Rafaela Saraiva PERES<sup>2</sup>, Ceci SALES-CAMPOS<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Universidade do Estado do Amazonas, Programa de Pós-graduação Rede de Biodiversidade e Biotecnologia da Amazônia Legal, Av. Carvalho Leal 1777, Cachoeirinha, 69065-001, Manaus, AM, Brasil.

<sup>2</sup> Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Ave. André Araújo 2936, Petrópolis, 69067-375, Manaus, AM, Brazil.

\* Corresponding author: cidoka83@gmail.com.

**ABSTRACT**

This work includes the analysis of forty-two *Phellinus* specimens collected in the States of Amazonas and Roraima, located in the Brazilian Amazon region. Macroscopic and microscopic examination in these specimens has been done in order to find important characters that distinguish each species of *Phellinus* in this region. *Phellinus shaferi* is a new record for the state of Amazonas, *P. amazonicus*, *P. nigricans* and *P. tremulae* are new records for Brazil. Distribution and description are presented for each specie.

**KEYWORDS:** Hymenochaetales, neotropics, taxonomy, conservation.

## INTRODUCTION

*Phellinus* Quél. is the major genus in the *Hymenochaetaceae* (Donk) with 250 species (Gibbertoni *et al.* 2004; Parmasto 2007; Dai 2010; Zhou and Jia 2011; Zhou *et al.* 2016). These taxa have been thoroughly distribution and studied using morphological characters indicate a polyphyletic condition but now new chemical and molecular data (Zhou *et al.* 2016) show non monophyletic relationship with the genus. Therefore, many species previously classified as *Phellinus* were allocated to other genera such as *Fomitiporia* Murrill, *Fulvifomes* Murrill, *Fuscuporia* Murrill, *Sanguoporus* Sheng H. Wu, L.W. Zhou & Y.C. Dai, *Tropicoporus* L.W. Zhou & Y.C. Dai and *Phellinotus* Y.C. Dai among others (Dai 1999; Niemelä *et al.* 2001; Wagner and Fischer 2002; Coelho *et al.* 2009; Baltazar and Gibbertoni 2010; Dai 2010; Drechsler-Santos *et al.* 2016).

The *Phellinus igniarius* (L.) Quél. complex herein with other species form a monophyletic group that are now considered to be the genus *Phellinus* sensu stricto. This clade is characterized mostly by their perennial basidiome, homogeneous context, hyphal system dimitic with generative hyphae with simple and not crusted septum, hymenial setae and generally not exceeding 25 µm having hyaline spores, with thick walls, not reacting to KOH and Melzer being moderately cyanophilic (Wagner and Fischer, 2002; Decock *et al.* 2006; Sell 2008; Dai 2010; Yombiyeni *et al.* 2011).

In Brazil, 54 species of *Phellinus* had been recorded (<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/listaBrasil>). Among these, 14 species are registered in the Brazilian Amazon, where only a few studies have been conducted (Capelari and Maziero 1988; Bononi 1981, 1992; Jesus 1996; Gomes-Silva *et al.* 2009; Sotão *et al.* 1997, 2002, 2008; Gomes-Silva *et al.* 2012 Soares *et al.* 2018) and this area needs further research for its biodiversity.

The Amazon Forest is known as a place with high biodiversity and considering the undeniable importance of the hymenochaetoid fungi in this ecosystem, this work aims to provide information about the diversity of *Phellinus* in the Brazilian Amazon.

## MATERIALS AND METHODS

The expeditions were performed in the Amazon region of Brazil in 2016, 2017 and 2018 in three Conservation Units: Adolpho Ducke Forest Reserve (DUCKE) and Tropical Silviculture Experimental Station (ZF-2) in the State of Amazonas, and Viruá National Park (VIRUA), in the State of Roraima. Samples were collected during the rainy seasons of each state (Jan.-Aug.).

Collection of basidiomata samples followed the documentation and preservation methods mentioned by Fidalgo and Bononi (1984). Slides were mounted with 3% KOH and cotton blue

solution. Additionally, Melzer reagent was used to observe the chemical reactions of dextrinoid and amyloid following Teixeira (1995). Spore measurements of the described samples are expressed as  $L \times W$  ( $L$  = mean spore length,  $W$  = mean spore width). Microscopic analysis of the hyphal system was made by sections from the tube layer and from the context under the pileal surface and between the tube layers using a stereomicroscope after incubation in 3–5% NaOH for 48 hours at 40°C (Decock et al. 2010). All microscopic measurements were performed with water to avoid having these structures in size. Microscopes (Leica DM500) with a clear chamber and an attached camera were used to illustrate the microstructures.

The identification and confirmation of species were made based on specialized literature such as Ryvar den and Johansen (1980), Ryvar den (1991; 2004), Gomes-Silva et al. (2009) and Dai (2010). The specimens were incorporated into the Herbarium of the National Institute Research for the Amazon (INPA). The author's names of the species were taken from Mycobank and World databases of fungal names were accessed at Index Fungorum. All specimens were deposited at INPA Herbarium.

## RESULTS

A total of 42 specimens was collected in the Brazilian Amazon. They are represented by seven species of *Phellinus*: *P. amazonicus* Camp. -Sant. & Decock, *P. extensus* (Lév.) Pat., *P. fibrosus* Ryvar den, Gomes-Silva & Gibertoni, *P. nigricans* (Fr.) P. Karst, *P. shaferi* (Murrill) Ryvar den, *P. tremulae* (Bondartsev) Bondartsev & P.N. Borisov and *P. tuberculatus* Niemelä.

## TAXONOMY

*Phellinus amazonicus* Camp. -Sant. & Decock, in Campos Santana, Amalfi, Castillo & Decock, Mycologia 108(5): 947. 2016. (Figure 1A, a).

Basidiocarps perennial, resupinate, solitary, following the surface of the substrate, woody hard when dry. Hymenial surface pale grayish brown to dark brown, finely velutinate to glabrous, up to nodulous to obclavate; margin obtuse, yellowish brown. Pore surface light brown to golden brown; pores regular, round to ellipsoid, 7–8/mm. Context very thin yellowish brown, corky, up to 5 mm thick. Tube layer single to multiple. Hyphal system dimitic; generative hyphae simple septate; tissue darkening in KOH. Generative hyphae hyaline to pale yellowish, thin to slightly thick-walled, rarely branched, septate, 1.5–3  $\mu\text{m}$  diam; skeletal hyphae dominant, yellowish brown, thick-walled with a wide lumen, unbranched, interwoven, 2.5–4.0  $\mu\text{m}$  diam. Hymenium with setae frequent, mostly ventricose, straight to curved, occasionally slightly sinuous, the apex acute, straight to commonly



curved, or slightly hamate, hooked, 13–15 x 4–6 µm. Cystidioles and chlamydospores absent. Basidia subglobose to barrel-shaped. Basidiospores broadly ellipsoidal or subglobose, hyaline, slightly thick-walled, smooth, IKI–, moderately CB+, 4.5–5 x 3.8–4.2 µm.

**Distribution:** Northeastern Guianan Shield, French Guiana, western edge of Amazonia, Ecuador and Island Trinidad (Campos-Santana *et al.* 2016).

**Materials examined:** **BRAZIL. Amazonas:** Adolpho Ducke Forest Reserve, 04 Feb 2018, *M.A. Silva* INPA287166; Tropical Silviculture Experimental Station, 31 May 2017, *M.A. Silva* INPA287278.

**Remarks:** All macroscopic characteristics like to those found in the specimens examined by Campos-Santana *et al.* (2016) differing only in the number of pores that, in the studied specimens do not exceed 8/mm, and in the samples studied by Campos-Santana *et al.* (2016) this number reaches 10/mm. Microscopically, the specimens do not show significant differences, except in the shape of the spore.

***Phellinus extensus*** (Lév.) Pat., Essai Tax. Hyménomyc. (Lons-le-Saunier): 97. 1900. (Figure 1B, b). Basidiocarps perennial, pileate, solitary or aggregated. Pileus dimidiate, conchate to appanate, up to 2.5–3 cm wide, 4.8–7 cm broad and 0.7 cm thick, upper surface reddish brown to blackish, thick dark cuticle, turning more or less glabrous in concentric zones, margin faintly to strongly obtuse, entirely to weakly lobed. Hymenial surface pale grayish brown to dark brown, finely velutinate to glabrous. Pore surface light brown to golden brown; pores regular, round to ellipsoid, 7–10/mm. Context very thin reddish brown, corky, with a dark cuticle, up to 5 mm thick. Hyphal system dimitic; generative hyphae simple septate; tissue darkening in KOH. Generative hyphae hyaline to pale yellowish, thin to slightly thick-walled, rarely branched, frequently septate, 2–3.5 µm diam, skeletal hyphae dominant, yellowish, thick-walled with a wide lumen, unbranched, interwoven, 5–7.0 µm diam. Hymenium with setae frequent, mostly ventricose, hooked, 12–15 x 4.8–8 µm. Cystidioles and chlamydospores absent. Basidia subglobose to barrel-shaped. Basidiospores broadly subglobose, hyaline, slightly thick-walled, smooth, IKI–, moderately CB+, 3–6.0 x 3–4.0 µm.

**Distribution:** It has a pantropical distribution in the Amazon region it is found in the states of Amazonas and Pará (Gomes-Silva and Gibertoni 2009).

**Materials examined:** **BRAZIL. Amazonas:** Tropical Silviculture Experimental Station, 16 Jan 2013, *M.A. Silva* INPA287242, 04 Mar 2016, *M.A. Silva* INPA287241, 07 Jun 2016, *M.A. Silva* INPA287248, INPA287292, 08 Jun 2016, *M.A. Silva* INPA287249, INPA287250, INPA287277, INPA287293; Adolpho Ducke Forest Reserve, 28 Feb 2018, *M.A. Silva* INPA287284, 03 Mar 2018, *M.A. Silva* INPA287265, INPA287267. **Roraima:** Viruá National Park, 12 Jul 2017, *M.A. Silva* INPA287200, INPA287225, 05 Oct 2017, *M.A. Silva* INPA287180, INPA287190, 06 Oct 2017, *M.A.*

*Silva* INPA287194, 21 Aug 2018, M.A. *Silva* INPA287209, INPA287211, M.A. *Silva* INPA287214, INPA287218, 22 Aug 2018,

**Remarks:** The macroscopically examined specimens are also very similar to *Fuscoporia gilva* (Schwein.) T. Wagner & M. Fisch., however it does not have encrusted hyphae and its spores are larger, reaching up to 6 µm. The analyzed specimens presented macro and microscopic characteristics similar to those analyzed in Ryvarden and Johansen (1980), Sousa (1980) and Sotão *et al.* (2008).

***Phellinus fibrosus*** Ryvarden, Gomes-Silva & Gibertoni, in Gomes-Silva, Ryvarden & Gibertoni, Phytotaxa 67: 56. 2012. (Figure 1C, c).

Basidiocarps perennial, effused-reflexed with a narrow pileus in upper edge of one of the basidiocarps, up to 4.0 x 5.0 cm in the resupinate part and up to 2 cm thick in this part, pileus glabrous, dull, sulcate, solitary or aggregated. Hymenial surface pale yellowish brown. Pore surface light brown to golden brown; pores regular, round to angular 5-7.0/mm. Context rusty brown with a black zone up to 1.5 mm wide between the context and the substrate. Hyphal system dimitic; generative hyphae simple septate; tissue darkening in KOH. Generative hyphae hyaline to pale yellowish, thin- to slightly thick-walled, frequently septate, 2–3 µm diam, skeletal hyphae dominant, yellowish to rusty brown, thick-walled with a wide lumen, unbranched, interwoven, 3–4.0 µm diam. Hymenium with setae 14–20.0 × 4–6.0 µm, dark brown, thick-walled, acute ventricose. Basidiospores subglobose to ellipsoid, pale yellow in 3% KOH, IKI–, moderately CB+, 4.3–5.0 x 3–4 µm.

**Distribution:** *Phellinus fibrosus* is only known from the state of Amazonas, Brazil (Gomes-Silva *et al.* 2012).

**Materials examined:** BRAZIL. Amazonas: Experimental Station of Tropical Forestry, 02 Mar 2016, M.A. *Silva* INPA287291; Adolpho Ducke Forest Reserve, 07 Feb 2017, M.A. *Silva* INPA287262.

**Remarks:** The specimens examined present the tramatic setae with the center region swollen with acute, long and tapered apex, this characteristic also is described for the Type species example (Gomes-Silva *et al.* 2012). The occurrence of this species only in Amazon State corroborates to Gomes-Silva *et al.* (2012).

***Phellinus nigricans*** (Fr.) P. Karst., Finl. Basidsvamp. (no. 11): 134. 1899. (Figure 1D, d).

Basidiocarps perennial, pileate, solitary. Pileus triquetrous, applanate, up to 10-15 cm wide, 4-7 cm broad and 2-8 cm thick, pileal surface flat, black, glabrous with numerous narrow concentric sulcate zones. Hymenial surface brown to dark brown or turning dark at the edges. Pore surface light brown to golden brown; pores regular, round to ellipsoid, 8–12/mm. Context homogeneous, rusty brown, corky, up to 2-10 mm thick. Hyphal system dimitic. Generative hyphae hyaline to pale yellowish,

thin- to slightly thick-walled, rarely branched, septate, 2–3 µm diameter skeletal hyphae yellowish, thick-walled with a wide lumen, unbranched, interwoven, 2–4.0 µm diameter. Hymenium with setae frequent, mostly subulate, 10–20 x 6–8 µm. Cystidioles and chlamydospores absent. Basidia subglobose to barrel-shaped. Basidiospores broadly subglobose, hyaline, slightly thick-walled, smooth, IKI–, moderately CB+, 4–5 x 3–4 µm

**Distribution:** Species found on the European continent (Ryvarden and Gilbertson 1994), with no records for Brazil

**Materials examined: BRAZIL. Amazonas:** Experimental Station of Tropical Forestry, 02 Mar 2016, *M.A. Silva INPA287232*.

**Remarks:** *Phellinus nigricans* is characterized by having perennial, pileate basidiomata, subulate setae and subglobose and hyaline basidiospores. Comparing the studied sample with specimens coming from Europe, we observed that both macroscopic and microscopic characteristics, like its brown to black crust and thin skeletal hyphae (up to 4 µm), indicate that this sample possible to be of the same species (Ryvarden & Gilbertson, 1994). *Phellinus nigricans* is closer macroscopically to two other Brazilian species: *P. grenadenses* and *P. roseocinereus*. Inicially, they are distinguishable from this specimen by their basidiospore size (4-6x3-5µm) and pore diameter (4-5.0 x 3–4.0 µm), while the examined material has smaller basidiospore (4-5 x 3–4.0 µm) and pore (8–12/mm) measurements. Alternatively, *P. roseocinereus* presents smaller basidiospores (3,5-4 x 4-5 µm) and larger setae (20-30 x 4-5 µm) (Pires and Gugliota 2016).

***Phellinus shaferi*** (Murrill) Ryvarden, *Norw. J. Bot.* 19: 235. 1972. (Figure 1E, e).

Basidiocarps perennial, pileate to effused-reflexed or adnate. Hymenial surface reddish brown with an ashy blue shine. Pore surface light brown to golden brown; pores irregular, round to angular 5–6.0/mm. Context homogeneous, almost lacking, reddish brown and fibrous. Hyphal system dimitic; tissue darkening in KOH. Generative hyphae hyaline to pale yellowish, thin- to slightly thick-walled, frequently septate, 2–4.0 µm diam; skeletal hypha, yellowish to rusty brown, thick-walled with a wide lumen, unbranched, interwoven, 2–5.0 µm diam. Hymenium with setae subventricose to acuminate, straight, dark brown, 15–21 x 4–8 µm. Basidiospores globose, pale yellow in 3% KOH, IKI–, moderately CB+, 4.0–4.5 x 3–3.5 µm.

**Distribution:** It appears to be well distributed throughout the globe. In Brazil there are records for the majority of biomes, having been found in the Amazon biome in the state of Roraima (Gomes-Silva and Gibertoni 2009, Amapá e Pará). This is the first record in Amazonas.

**Materials examined: BRAZIL. Amazonas:** Adolpho Ducke Forest Reserve, 19 Nov 2017, *M.A. Silva INPA287201*, 24 Feb 2018, *M.A. Silva INPA287171*.

**Remarks:** The basidiome examined does not show significant variations in characteristics compared to those described for the type specie (Ryvarden, 1972), and the spore size (4.0–4.5 x 3–3.5µm) is still within the variation of spore size of the type specie (Ryvarden and Johansen 1980). It can be confused with *P. ferrugiovelutino* for presenting similar setae, however the other microscopic characteristics distinguish them.

*Phellinus tremulae* (Bondartsev) Bondartsev & P.N. Borisov [as 'tremulus'], in Bondartsev, Trut. Grib Europ. Chasti SSSR Kavkaza [Bracket Fungi Europ. U.S.S.R. Caucasus] (Moscow-Leningrad): 358. 1953. (Figure 1F, f).

Basidiome perennial, pileate, aggregated. Pileus dimidiate, unguulate, up to 3-9 cm wide, 2-3 cm broad and 2 cm thick, upper surface grayish-brown to blackis, without grooves. Hymenial surface pale grayish brown to dark brown, with lighter edges, finely velutinate. Pore surface light brown to golden brown; pores regular, round, 7–10/mm. Context, at some points, interspersed with discontinuous black lines mainly on the lateral edges. In the center, it is homogeneous. Hyphal system dimitic; tissue darkening in KOH. Generative hyphae hyaline to pale yellowish, thin to slightly thick-walled, septate, 2–3.5 µm diam; skeletal hyphae dominant, yellowish, thick-walled with a wide lumen, unbranched, interwoven, 5–6.0 µm diam. Hymenium with setae subulate, hooked, 25–30 x 4–5 µm. Cystidioles present and chlamydospores absent. Basidia subglobose to barrel-shaped. Basidiospores broadly ellipsoidal, hyaline, slightly thick-walled, smooth, IKI–, moderately CB+, 3–5 x 2-3 µm.

**Distribution:** Distribution pantropical, however, no previous are known of this species for Brazil.

**Materials examined:** **BRAZIL. Roraima:** Viruá National Park, 12 Jul 2017, *M.A. Silva INPA287221*, 03 Out 2017, *M.A. Silva INPA287193*, 04 Oct 2017, *M.A. Silva INPA287179*, *INPA287222*.

**Remarks:** *Phellinus tremulae* is characterized by having perennial, pileate and unguulate basidiomata, a dimitic hyphal system and ellipsoid and hyaline basidiospores. This species is widely distributed over globally. Ficher and Binder (2004) have demonstrated, based on molecular analysis, that there is no significant difference between specimens from China and Europe. However, some variation is observable when compared with material from North America, though still not enough to justify a differentiation the species level. Curiously, several discontinuous black lines were found on our specimens, a characteristic not observed by Nimelä (1982) or Dai (2010). Microscopically aspects, our material presents smaller basidiospores (3-5 x 2-3.0 µm) in comparison with the Chinese specimens (4.6-5.5 x 3.2-4.3 µm) analyzed by Dai (2010), providing evidence to justify a proposing to new species. More extensive research, including molecular analysis, is necessary to better comprehend of this taxon distribution and its morphological variations. Then, it might be possible to

indicate some correlation between these characteristics and the species's region of origin, and why this species is considered rare in the South Hemisphere.

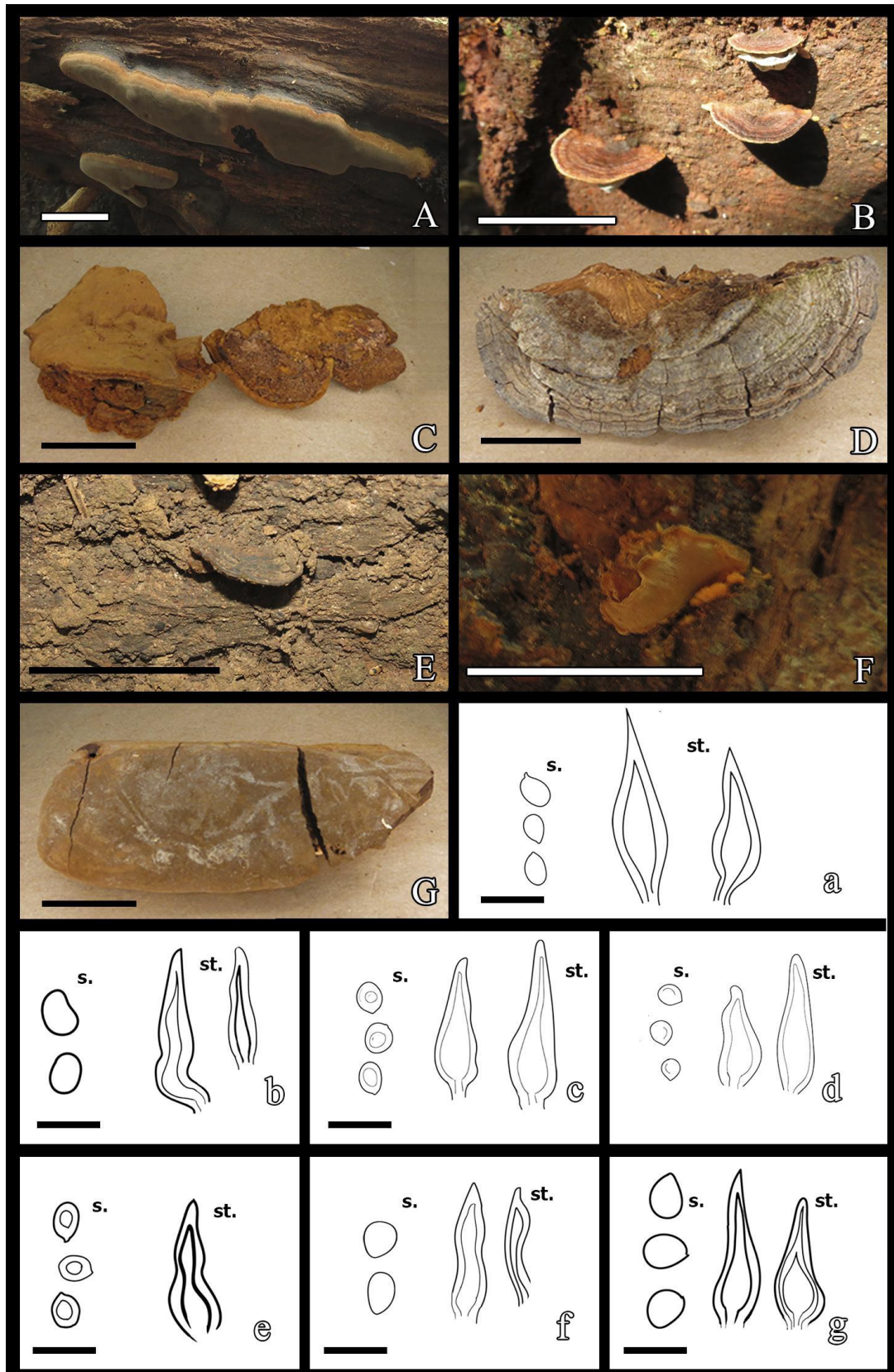
***Phellinus tuberculosus*** Niemelä, *Karstenia* 22(1): 12. 1982. (Figure 1G, g).

Basidiocarp perennial, effused-reflexed to pileate. Pileal surface subungulate projecting up to 10 cm, 6 cm wide and 4 cm thick at base. Hymenial surface reddish brown with an ashy blue interster. Pore surface grayish brown, velutinate; pores round 5-7.0/mm. Context homogeneous, yellowish up to 5 mm thick. Hyphal system dimitic; tissue darkening in KOH. Generative hyphae hyaline to pale yellowish, thin- to slightly thick-walled, frequently septate, 2.5–4.0  $\mu\text{m}$  diam; skeletal hypha, yellowish to rusty brown, thick-walled with a wide lumen, unbranched, interwoven, 3.5–5.0  $\mu\text{m}$  diameter. Hymenium with setae subulate to ventricose, dark brown, thick-walled, 13–16  $\times$  4–6.0  $\mu\text{m}$ . Basidiospores ellipsoid with a small guttulate, hyaline, thick-walled, smooth, IKI–, moderately CB+, 4.4–5.5  $\times$  3–4.3  $\mu\text{m}$ .

**Distribution:** It is well distributed throughout the globe. In Brazil there are records for the majority of biomes, but in the Amazon biome only for Roraima (Gomes-Silva and Gibertoni 2009).

**Material examined:** BRAZIL. Roraima: Viruá National Park, 21 Aug 2018, M.A. Silva INPA287215.

**Remarks:** This species has a variation in spore size according to geographic region (Dai 2010), specimens from Europe have larger spores (5.8  $\times$  5 $\mu\text{m}$ ) while those founded in Asia and North America have smaller spores (5 $\times$ 3 $\mu\text{m}$ ). The analyzed specimen has spore size similar to those of Asia and North America (4.4–5.5  $\times$  3–4.3  $\mu\text{m}$ ).



**Figure 1.** Macro and microscopic characteristics of *Phellinus*. *Phellinus amazonicus*: **A** basidiome, **a** spores (s.) and setae (st.). *Phellinus extensus*: **B** basidiome, **b** spores (s.) and setae (st.). *Phellinus fibrosus*: **C** basidiome, **c** spores (s.) and setae (st.). *Phellinus nigicans*: **D** basidiome, **d** spores (s.) and setae (st.). *Phellinus shaferi*: **E** basidiome, **e** spores (s.) and setae (st.). *Phellinus tremulae*: **F** basidiome, **f** spores (s.) and setae (st.). *Phellinus tuberculosus*: **G** basidioma, **g** spores (s.) and setae (st.). Photography by Silva, M.A. and drawings by Magalhães, F.F.C.

**Dichotomous key for *Phellinus* in the States of Amazonas and Roraima in Northern Brazil at the Adolpho Ducke Forest Reserve, Tropical Silviculture Experimental Station and Viruá National Park.**

1. Basidiomata resupinated.....*P. amazonicus*  
 Basidiomata effuse-reflex or pileate.....2
2. Basidiomata pileate.....3  
 Basidiomata effuse-reflex.....5
3. Setae subulate to ventricose..... *P. extensus*  
 Setae subulate, hooked.....4
4. Hymenial surface with 8-12 pores/mm, basidiospores subglobose 4-5x3-4µm.....*P. nigricans*  
 Hymenial surface with 7-10 pores/mm, basidiospores subglobose 3-5x2 µm .....*P. tremulae*
5. Hymenial surface with 5-6 pores/mm, basidiospores globose.....*P. shaferi*  
 Hymenial surface with 5-7 pores/mm, basidiospores globose to ellipsoid.....6
6. Setae subulate to ventricose, basidiospores ellipsoid.....*P. tuberculosus*  
 Setae ventricose, basidiospores elipsoid.....*P. fibrosus*

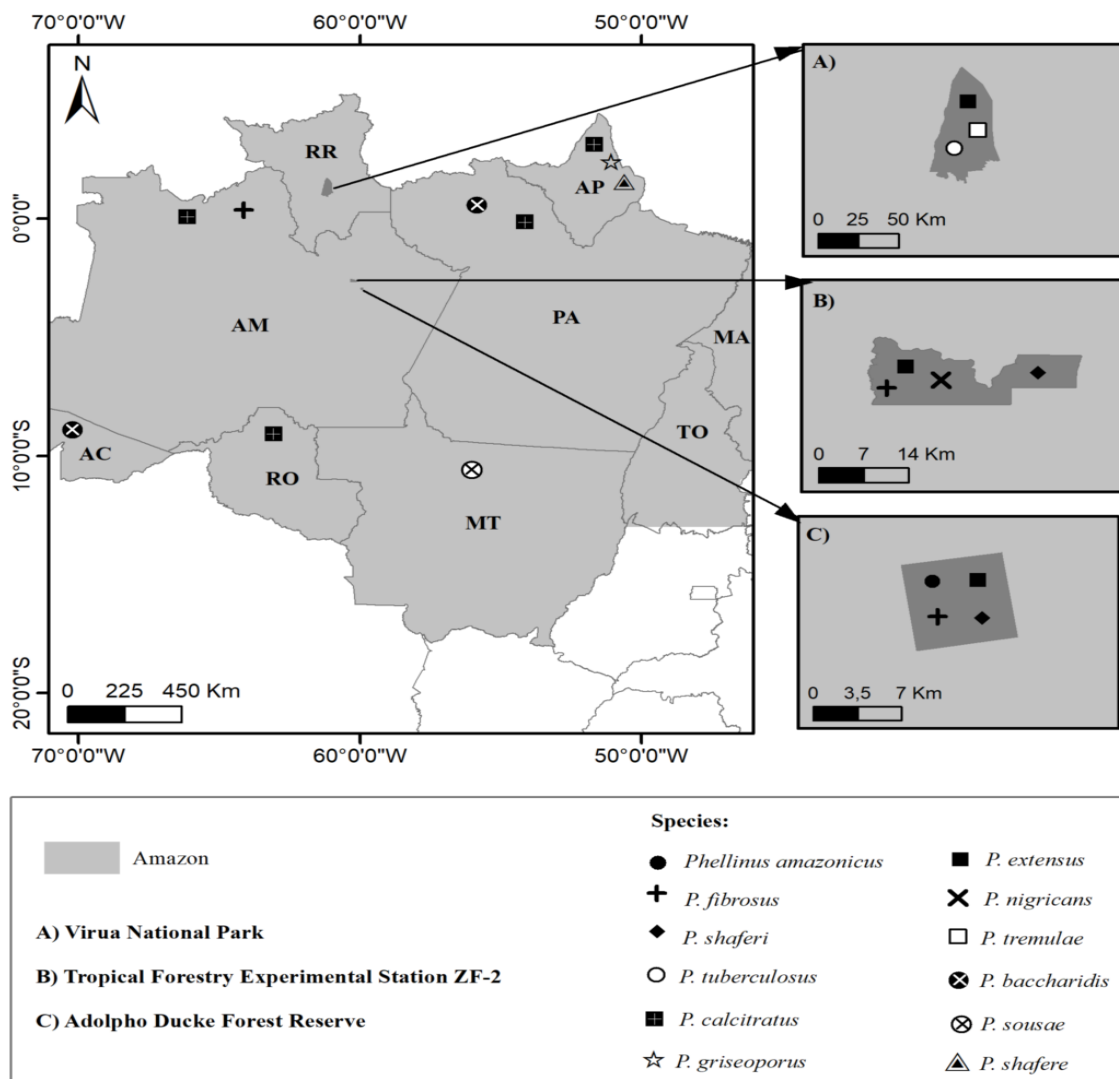
## DISCUSSION

In Flora do Brasil database (Reflora 2020), there are 54 *Phellinus* species, with 14 registered in the Brazilian Amazon. It is important to highlight that this database is, or at least is supposed to be, a list of all records of any taxon for the whole country. In light of our studies, we, consider the data found in the present study the information contained in the Flora do Brasil does not necessarily reflect the diversity of the *Phellinus* genus, as several taxon names registered might be synonyms for other genera. If we also consider what recent molecular studies have been showing, of the 14 species recorded in Brazilian Amazon, only six would be validated: *Phellinus baccharidis* (Pat.) Pat., *P. calcitratus* (Berk. & M.A. Curtis), *P. fibrosus*, *P. griseoporus* D.A. Reid, *P. shaferi* (Murrill) Ryvardeen. and *P. sousae* Ryvardeen, Gomes-Silva & Gibertoni (Fig.2). In recent years, few studies have expanded knowledge about the *Phellinus* genus in the Brazilian Amazon, bringing two records to the country *P. tuberculosus* and *P. extensus* (Gomes-Silva and Gibertoni 2012).

In this study, three new records were added: *Phellinus amazonicus*, *P. nigricans* and *P. tremulae*; all of them new references for Brazil (Fig.2). These results show that more in-depth and widely varying studies are necessary in order to allow a more robust analysis in the diversity of *Phellinus* genus on Brazil, especially in the Brazilian Amazon.

With 29 samples *Phellinus extensus* is widely distributed throughout all studied areas, with 17 samples from Viruá National Park, eight samples at Tropical Silviculture Experimental Station and four samples at Adolpho Ducke Forest Reserve. In the Viruá National Park *P. tremulae* was found with four samples, and *P. tuberculosus* with just one sample. *Phellinus shaferi*, with just four samples, was found in the Adolpho Ducke Forest Reserve and Tropical Silviculture Experimental Station. *Phellinus amazonicus* and *P. nigricans* were the rarest species with just one sample, at Adolpho Ducke Forest Reserve and Tropical Silviculture Experimental Station respectively.

Regardless of the number of *Phellinus* species founded in the Brazilian Amazon there is no evidence for lower diversity. Instead, more species have been reported in the same Amazonian biome by Gomes-Silva and Gibertoni (2009) and in other Brazilian regions.



**Figure 2:** Distribution of *Phellinus* species in the Brazilian Amazon region. Regardless of the *Phellinus* species number founded in the Brazilian Amazonian area, there is no evidence for lower diversity as would be expected. Instead, more and more species had been reported to the same Amazonian biome by Gomes-Silva and Gibertoni (2009) and for other Brazilian regions.



## CONCLUSION

This work brings to seven the identified *Phellinus* species and some of them are new record for the state of Amazonas (*P. shaferi*) with new records for Brazil (*P. amazonicus*, *P. nigricans* and *P. tremulae*). This study shows that the diversity of *Phellinus* is not yet established, and more expeditions are needed to increase our knowledge of *Phellinus* in the Amazon region.

## ACKNOWLEDGMENTS

We thank the Coordination for the Improvements and the Higher Education Personnel (CAPES) for granting a doctoral scholarship the PRÓ-AMAZÔNIA 3251/2013 project for financial support. We also thank Amazonas State University and the National Institute for research logistical support in Amazon.

## REFERENCES

- Baltazar, J.M.; Gibertoni, T.B. 2010. New combinations in *Phellinus* sl and *Inonotus* sl. *Mycotaxon*, 111(1): 205-208.
- Bononi, V.L.R. 1981. Alguns basidiomicetos hidnóides da região Amazônica. *Rickia*, 9: 13-30.
- Bononi, V.L.R. 1992. Fungos macroscópicos de Rio Branco, Acre, Brasil. *Hoehnea*, 19: 31-37.
- Campos-Santana, M.; Amalfi, M.; Castillo, G.; Decock, C. 2016. Multilocus, DNA-based phylogenetic analyses reveal three new species lineages in the *Phellinus gabonensis* and *P. caribaeo-querpicola* species complex, including *P. amazonicus* sp. nov. *Mycologia*, 108(5): 939-953.
- Capelari, M.; Maziero, R. 1988. Fungos macroscópicos do estado de Rondônia, região dos Rios Jaru e Ji-Paraná. *Hoehnea*, 15: 28-36.
- Coelho, G.; Silverira, R.M.B.; Guerrero, R.T.; Rajchenberg, M. 2009. On poroid Hymenochaetales growing on bamboos in Southern Brazil and NE Argentina. *Fungal Diversity*, 36:1-8.
- Corner, E.J.H. 1991. Ad Polyporaceas VII. The anthochroic polypores. *Beih Nova Hedwig*, 101:1-175.
- Dai, Y.C. 1999. *Phellinus sensu lato* (Aphylliphorales, Hymenochaetaceae) in East Asia. *Acta Botanica Fennica*, 166:1-115.

- Dai, Y.C. 2010. *Hymenochaetaceae* (Basidiomycota) in China. *Fungal Diversity*, 45: 131-343.
- Decock, C.; Figueroa, S.H.; Robledo, G.; Castillo, G. 2006. *Phellinus caribaeo-quercicolus* sp. nov., parasitic on *Quercus cubana*: taxonomy and preliminary phylogenetic relationships. *Mycologia*, 98(2): 265-274.
- Fidalgo, O; Bononi, V.L.R. 1984. *Técnicas de coleta, preservação e herborização de material botânico*. Instituto de Botânica, São Paulo, 62p.
- Furtado, J.S. 1981. Taxonomy of *Amauroderma* (Basidiomycetes, Polyporaceae). *Memoirs of the New York Botanical Garden*, 34: 1-109.
- Gibertoni, T.B.; Ryvarden, L.; Cavalcanti, M.A.Q. 2004. New records of Aphyllophorales (Basidiomycota) in the Atlantic Rain Forest in Northeast Brazil. *Acta Botânica Brasileira*, 18: 975-979.
- Gomes-Silva, A.C.; Gibertoni, T.B. 2009. Checklist of the aphylloraceous fungi (Agaricomycetes) of the Brazilian Amazonia. *Mycotaxon*, 108: 319-322.
- Gomes-Silva, A.C.; Ryvarden, L.; Gibertoni, T.B. 2009. New and interesting species of *Hymenochaetaceae* from the Brazilian Amazonia. *Mycological progress*, 8(4): 273-279.
- Gomes-Silva, A.C.; Ryvarden, L.; Gibertoni, T.B. 2012. Two new species of *Phellinus* sl from the Brazilian Amazonia. *Phytotaxa*, 67(1): 55-60.
- Jesus, M.A. 1996. Contribution to the knowledge of wood-rotting fungi in Brazil. II. Check-list of fungi from Maracá Island, Roraima State. *Mycotaxon*, 57: 323-328.
- Kornerup, A.; Wanscher, J.H. 1981. *Methuen handbook of color*. 3rd ed. Eyre Methuen Ltd., London, 282p.
- Martins-Júnior, A.S.; Gibertoni, T.B.; Sotão, H.M.P. 2008. *Diplomitoporus allantoporus* (Basidiomycetes): a new record to Brazil. *Mycotaxon*, 106: 195-198.
- Niemelä, T.; Kinnunen, J.; Lindgren, M.; Manninen, O.; Miettinen, O.; Penttilä, R.; Turunen, O. 2001. Novelties and records of poroid Basidiomycetes in Finland and adjacent Russia. *Karstenia*, 41(1): 1-21.
- Niemelä, T.; Kotiranta, H. 1982. Polypore survey of Finland 2. The genus *Phellinus*. *Karstenia*, 22: 27-42.

Parmasto, E. 2007. *Phellinus laevigatus* sl (Hymenochaetales): a ring species. *Folia Cryptogamica Estonica*, 43: 39-49.

Reflora - Herbário Virtual. Disponível

em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/herbarioVirtual/> Acesso em 11/12/2020

Ryvarden, L. 1991. Genera of polypores: nomenclature and taxonomy. *Synopsis Fungorum*, 5: 1-363.

Ryvarden, L. 2004. Neotropical Polypores. Part 1. Introduction, *Hymenochaetaceae* and *Ganodermataceae*. *Synopsis Fungorum*, 19: 1-227.

Ryvarden, L.; Johansen, I.A. 1980 *Preliminary Flora of East Africa*. Fungiflora, Oslo, Norway, 636p.

Ryvarden, L.; Gilbertson, R.L. 1994. *European polypores: Part 2: Meripilus-Tyromyces*. *Fungiflora A/S*, p. 394-743.

Sell, I. 2008. Taxonomy of the species in the *Phellinus igniarius* group. *Mycotaxon*, 104: 337-347.

Sotão, H.M.; Hennen, J.F.; Gugliotta, A.D.M.; Melo, O. A.; Campos, E.L. 1997. Os Fungos Basidiomycotina. In: Lisboa, P.L.B. (org.). *Caxiuanã, populações tradicionais, meio físico e diversidade biológica*. Museu Paraense Emílio Goeldi, Belém, Pará, p.213-219.

Sotão, H.M.P.; Gugliotta, A.M.; Oliveira, A.P.; Luz, A.B.; Melo, O.A. 2002. Fungos poliporóides. In: Lisboa, P.L.B. (org.). *Caxiuanã, populações tradicionais, meio físico e diversidade biológica*. Museu Paraense Emílio Goeldi, Belém, Pará, p.433-444.

Sotão, H.M.P.; Gibertoni, T.B.; Maziero, R.; Baseia, I.; Medeiros, P.S.; Martins-Júnior, A.; Capelari, M. 2008. Fungos macroscópios da Floresta nacional de Caxiuanã, Pará, Brasil: Basidiomycota (Agaricomycetes). In: Lisboa, P.L.B. (org.). *Caxiuanã: Desafios para conservação de uma Floresta Nacional na Amazônia*. Museu Paraense Emílio Goeldi, Belém, Pará, p.395-406.

Sousa, M.A. 1980. *O gênero Phellinus (Hymenochaetaceae) na Amazônia brasileira*. Tese de doutorado, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia/ Fundação Universidade do Amazonas, Manaus, Amazonas. 190p.

Teixeira, A.R. 1995. *Método para o estudo das hifas do basidiocarpo de fungos poliporáceos*. Instituto de Botânica, São Paulo, 20p.

Wagner, T.; Fischer, M. 2001. Natural groups and a revised system for the European poroid Hymenochaetales (Basidiomycota) supported by nLSU rDNA sequence data. *Mycological Research*, 105: 773-782.

Wagner, T.; Fischer, M. 2002. Proceedings towards a natural classification of the worldwide taxa *Phellinus* s.l. and *Inonotus* s.l., and phylogenetic relationships of allied genera. *Mycologia*, 94: 998-1016.

Yombiyeni, P.; Douanla-Meli, C.; Amalfi, M.; Decock, C. 2011. Poroid *Hymenochaetaceae* from Guineo–Congolian rainforest: *Phellinus gabonensis* sp. nov. from Gabon–taxonomy and phylogenetic relationships. *Mycological progress*, 10(3): 351-362.

Zhou, L.W.; Jia, B.S. 2011. A new species of *Phellinus* (*Hymenochaetaceae*) growing on bamboo in tropical China. *Mycotaxon*, 114(1): 211-216.

Zhou, L. W.; Vlasák, J.; Qin, W. M.; Dai, Y.C. 2016. Global diversity and phylogeny of the *Phellinus igniarius* complex (Hymenochaetales, Basidiomycota) with the description of five new species. *Mycologia*, 108(1): 192-204.

## 6. MANUSCRITO A SER SUBMETIDO (REVISTA MYCOTAXON): DIVERSITY OF POROID FUNGI OF THE GENERA *FULVIFOMES* (BASIDIOMYCOTA) IN THE WESTERN AMAZON

MARIA APARECIDA DA SILVA<sup>1</sup>, MARIA APARECIDA DE JESUS<sup>2</sup>, RAFAELA SARAIVA PERES<sup>2</sup>, CECI CAMPOS SALES<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Universidade do Estado do Amazonas, Programa de Pós-graduação Rede de Biodiversidade e Biotecnologia da Amazônia Legal, Av. Carvalho Leal 1777, Cachoeirinha, 69065-001, Manaus, AM, Brasil.

<sup>2</sup> Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Ave. André Araújo 2936, Petrópolis, 69067-375, Manaus, AM, Brazil.

\* Corresponding author: [cidoka83@gmail.com](mailto:cidoka83@gmail.com)

**ABSTRACT:** The present work presents a summary of the current knowledge regarding fungi of the genus *Fulvifomes* for the Northern region of Brazil (in the states of Roraima and Amazonas). A total, 21 species was collected, distributed in 7 species, all of which are the first reference or for the states where they were collected or for the Amazon region or even for Brazil. The work also brings photographs and illustrations of the collected species as well as an identification key.

**KEYWORDS:** Amazon rainforest, Hymenochaetales, Neotropics, Taxonomy

### INTRODUCTION

The Brazilian Amazon plays an important role in the economic and strategic scenario of Brazil, consisting of an Ombrophilous Dense Forest with high rates of endemism and a megadiverse ecosystem (Mittermeier et al. 2003). Living organisms from the Fungi group are essential in the composition of this biotic environment, playing an essential role in the nutrients cycle, notably in the degradation of lignin and cellulose (Holf et al. 2004). There are around 740 fungi species recorded in the Brazilian Amazon (Soares et al. 2014), 220 of those being poroid fungi distributed in various families and genera (Flora do Brasil 2020; Gugliotta et al. 2014).

The *Fulvifomes* genus belonged to *Hymenochaetaceae* Donk family, initially was described by Murrill (1914) as *Pyropolyporus robiniae* Murrill. Followingly, it was synonymized to *Phellinus* Quél. (Núñez & Ryvardeen 2000; Ryvardeen & Johansen 1980; Ryvardeen 1991). With the advent of molecular techniques, the genus was ultimately segregated from *Phellinus* sensu stricto (Dai 2010;

Sakayaroj et al. 2012; Wagner & Fischer 2002). Subsequently, several species were reallocated to it (Bondartseva et al. 1992; Baltazar & Gibertoni 2010; Dai 2010; Hattori et al. 2014; Wagner & Fischer 2002; Zhou 2014). The *Fulviformes* genus representatives are characterized by having pileate or resupinate basidiomata, with dimitic hyphal system, pale yellow basidiospores, and either presence or absence of setae (Dai 2010; Hattori et al. 2014).

Baltazar & Gibertoni (2009) cite only *Fulviformes nilgheriensis* (Mont.) Bondartseva & S. Herrera for the Brazilian Atlantic Forest in the states of Bahia and São Paulo. For the South and Southeast regions of the country, two recent works report eight more species: *F. durissimus* (Lloyd) Bondartseva & S. Herrera, *F. fastuosus* (Lév.) Bondartseva & S. Herrera, *F. glaucescens* (Petch) Y.C. Dai, *F. melleoporus* (Murrill) Baltazar & Gibertoni, *F. membranaceus* (J.E. Wright & Blumenf.) Baltazar & Gibertoni, *F. nilgheriensis* (Mont.) Bondartseva & S. Herrera, *F. rhytiphloeus* (Mont.) Camp.-Sant. & Robledo and *F. rimosus* (Berk.) Fiasson & Niemelä (Campos-Santana et al., 2015; Pires & Gugliotta, 2016). Lastly, in the Amazon region at the state of Amapá, Soares et al. (2014) recorded six other poroid species: *F. dependens* (Murrill) Bondartseva & S. Herrera, *F. fastuosus*, *F. grenadensis* (Murrill) Murrill, *F. merrillii* (Murrill) Baltazar & Gibertoni, *F. rimosus* and *F. umbrinellus* (Bres.) Y.C. Dai (Fig. 1).

The Amazon region is a well-known hotspot of fungal diversity, and each year, more studies expand the knowledge on poroid genera. Thus, in this work, we seek to provide a collection of data on the variety of *Fulviformes* species in the present region, focusing on the following areas: Adolpho Ducke Forest Reserve and Experimental Station of Tropical Silviculture, both in the Amazonas state; and Viruá National Park, in the state of Roraima. This data collection updates the available information for the genus in Brazil, specifically in Brazil's north region, including new biome records.

## **MATERIALS AND METHODS**

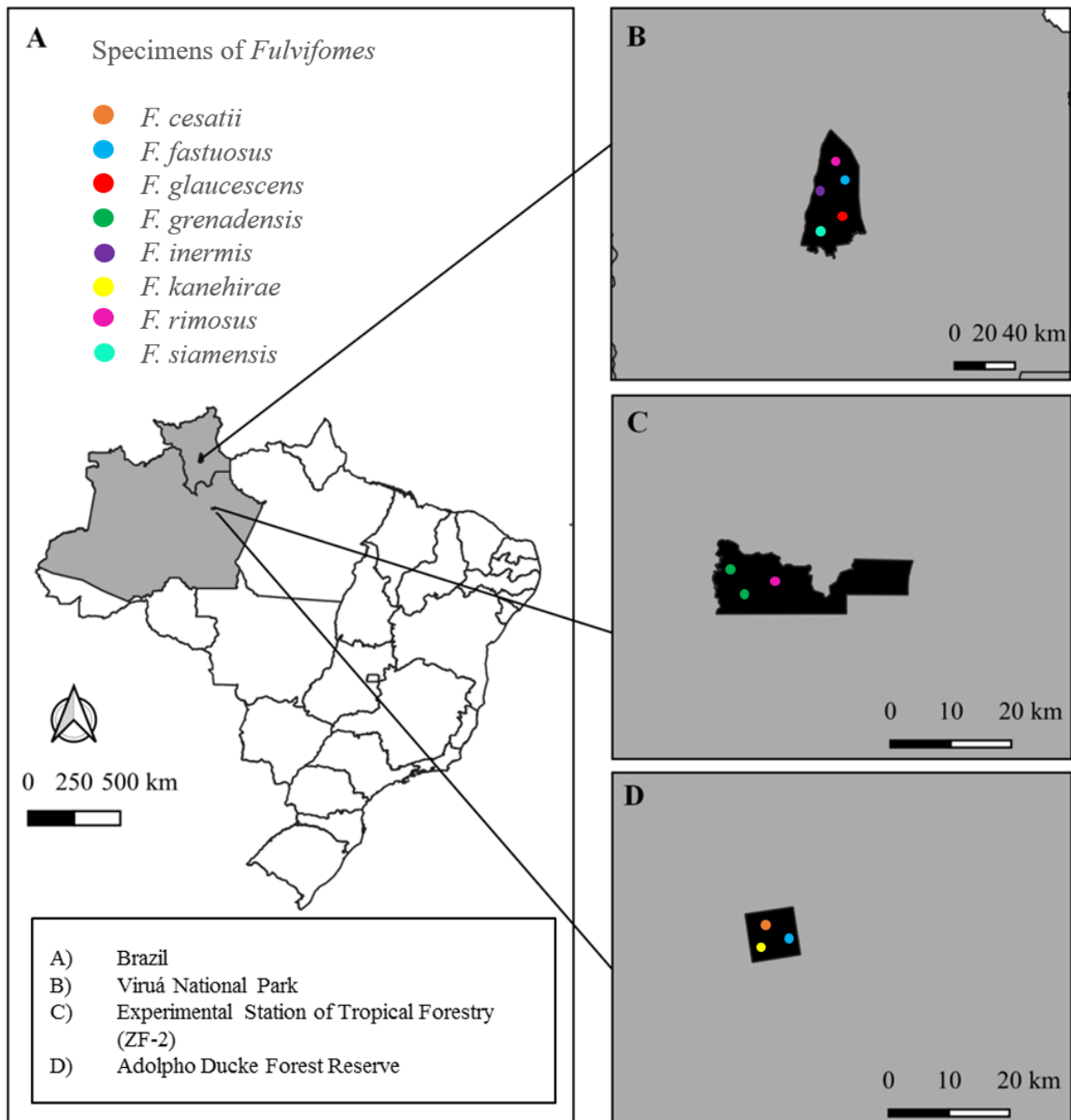
The materials were collected during the rainy season from 2016 up to 2018, in three different conservation areas from the Brazil's north region: Adolpho Ducke Forest Reserve and Experimental Station of Tropical Silviculture-ZF2, both in the Amazonas state; and Viruá National Park, in the state of Roraima. The procedures for collection and herborization followed the method utilized by Fidalgo & Bononi (1984). The macro and microscopic characters from basidiomata were analyzed to describe the samples, following the work by Dai (2010), Fidalgo (1968), Ryvarde (1991, 2004) and Teixeira (1962, 1995). Microstructures were analyzed in Melzer's reagent to check for amyloid or dextrinoid reactions and Cotton blue reagent. The size range of basidiospores was measured, according to Coelho (2005). The identification key was constructed following type studies (Dai 2010,

Gilbertson & Ryvarde 1986, Gilbertson & Ryvarde 1987, Larsen & Cobb-Poull 1990, Ryvarde 2004). All collected material was deposited in National Institute for Amazonian Research herbarium.

## RESULTS

21 specimens were collected in the Brazilian Amazon. Eight species of *Fulvifomes* represent them: *F. cesatii*, *F. fastuosus*, *F. glaucescens*, *F. grenadensis*, *F. inermis*, *F. kanehirae*, *F. rimosus* and *F. siamensis* (Figure 1A). The most common species was *Fulvifomes fastuosus*, with seven samples total distributed throughout all studied areas: four samples from Viruá National Park, two from Experimental Station of Tropical Silviculture-ZF2, and just one from Adolpho Ducke Forest Reserve. *Fulvifomes glaucescens*, *F. inermis* and *F. siamensis* were founded only in Viruá National Park.

*Fulvifomes grenadensis*, *F. rimosus*, and *F. fastuosus* were recorded on both the Experimental Station of Tropical Silviculture-ZF2 and Viruá National Park. The species *Fulvifomes cesatii* and *F. kanehirae*, together with *F. fastuosus*, as previously mentioned, were found in Adolpho Ducke Forest Reserve.



**Figure 1:** The sampling sites in the Viruá National Park, Experimental Station of Tropical Forestry (ZF-2) and Adolpho Ducke Forest Reserve, Brazil with distribution of *Fulvifomes* specimens.

## TAXONOMY

*Fulvifomes cesatii* (Bres.) Y.C. Dai, Fungal Diversity 45: 186 (2010) Fig.2A

Basionym: *Poria cesatii* Bres., Stud. Trent., ser. 2 7: 7 (1926).

≡ *Phellinus cesatii* (Bres.) Ryvardeen, Norw. J. Bot. 19: 234 (1972).

*Basidiomata* perennial, resupinate, solitary, following the surface of the substrate, hard woody consistency when dry; *hymenophore* rust brown to dark brown, finely velutinate to glabrous, up to



nodulose to obclavate; *margin* distinct, yellowish-brown; *pore surface* light brown to golden brown; *pores* regular, circular to angular, 7.5–9 per mm; *tubes* single layer up to multiple; *context* very thin yellowish-brown, with a distinct black zone between substrate and subiculum.

*Hyphal system* dimitic: *generative hyphae* simple septate, hyaline to pale yellowish, thin to slightly thick-walled, rarely branched, septate, 2–4  $\mu\text{m}$  diam., tissue darkening in KOH; *skeletal hyphae* dominant, yellowish-brown, thick-walled with a wide lumen, unbranched, interwoven, 3–5.5  $\mu\text{m}$  diameter. *Hymenium*: *hymenial setae* frequent, mostly ventricose, straight to curved 19–28  $\times$  4–8  $\mu\text{m}$ ; *cystidioles* and *chlamydospores* absent; *basidiospores* broadly ellipsoidal to subglobose, hyaline, slightly thick-walled, smooth, IKI–, moderately CB+, 3–4.5  $\times$  2.5–3  $\mu\text{m}$ .

**Distribution:** *Fulvifomes cesatii* has been previously found in Sri Lanka, China, India, and in Santa Catarina state, southern Brazil (Adarsh et al. 2019; Dai, 2010; Loguercio-Leite & Wright, 1995). There are no current records of the species in Brazil's north region, thus marking this register as the first for the Amazon region.

**Materials examined:** BRAZIL, Amazonas: Adolpho Ducke Forest Reserve, 24 Feb 2018, M.A. Silva INPA287169.

**Notes:** *Fulvifomes cesatii* is mainly characterized by having resupinate basidioma, the presence of ventricose setae, and yellowish basidiospores. The examined specimen presents macroscopic similarities with those described in Asia and China, though it has slightly larger basidiospores (4.2  $\times$  2.3  $\mu\text{m}$ ) (Adarsh et al. 2019; Dai, 2010). However, compared with other specimens registered in Brazil (Lougueiro & Leite 1995), this variation is nonexistent. Interestingly, works with material from colder regions, like Drechsler-Santos et al. (2008), describe specimens whose basidiospores size is similar to analyzed in this work.

***Fulvifomes fastuosus*** (Lév.) Bondartseva & S. Herrera, Mikol. Fitopatol. 26(1): 13 (1992)

$\equiv$  *Phellinus fastuosus* (Lév.) Ryvardeen, Norw. J. Bot. 19: 234 (1972). Fig 2B

*Basidiomata* perennial, pileate, solitary, applanate projecting up to 170 mm, 120 mm wide and 20 mm thick at base, hard woody consistency and without odor when dry; *hymenophore* dark brown, concentrically sulcate with wider zones; *margin* velvety, obtuse and brown; *pore surface* amber brown to golden brown; *pores* regular, circular, 7–9 per mm; *tubes* single layer; *context* very thin, yellowish-brown.

*Hyphal system* dimitic: *generative hyphae* simple septate, hyaline, tissue darkening in KOH, 2–4  $\mu\text{m}$  diam; *skeletal hyphae* dominant, brown, thick-walled with a wide lumen, unbranched, interwoven, 4–5.5  $\mu\text{m}$  diam. *Hymenium*: *hymenial setae*, *cystidioles*, and *chlamydospores* absent; *basidiospores* globose, yellowish, slightly thick-walled, smooth, IKI–, moderately CB+, 3–5  $\times$  3–4.5  $\mu\text{m}$ .

**Distribution:** *Fulvifomes fastuosus* has been previously described in Sri Lanka, and in Amapá, Paraná and Rio Grande do Sul states, Brazil (Ediriweera et al, 2014; Soares et al, 2014; Campos-Santana et al, 2015). There are no records for either Roraima or Amazonas states, thus marking this register as the first for the territories.

**Materials examined: BRAZIL. Amazonas:** Adolpho Ducke Forest Reserve, 28 Feb 2018, M.A. Silva & K.S. Cruz INPA287287; ZF-2 Experimental Station of Tropical Silviculture, 02 Mar 2016, M.A. Silva & K.S. Cruz INPA287259, 31 May 2017, M.A Silva & K.S. Cruz INPA287147. **Roraima:** Viruá National Park, 10 Jul 2017, M.A. Silva & K.S. Cruz INPA287154, 13 Jul 2017, M.A. Silva & K.S. Cruz INPA287159/287162/287165.

*Fulvifomes glaucescens* (Petch) Y.C. Dai, Fungal Diversity 45: 192 (2010) Fig 2C

Basionym: *Poria glaucescens* Petch, Ann. R. Bot. Gdns Peradeniya 6: 139 (1916).

≡ *Phellinus glaucescens* (Petch) Ryvardeen, Norw. J. Bot. 19: 234 (1972).

*Basidiomata* annual, resupinate, solitary, following the surface of the substrate as a thin layer; *hymenophore* greyish brown, sometimes with a glaucous shade; *margin* rust-brown, very narrow; *pore surface* light brown to golden brown; *pores* regular, circular to angular, 4–7 per mm; *tubes* single layer up to multiple; *context* very thin, yellowish-brown.

*Hyphal system* dimitic: *generative hyphae* simple septate, hyaline to pale yellowish, thin to slightly thick-walled, septate, 2–4 µm diameter, tissue darkening in KOH; *skeletal hyphae* dominant, brown, thick-walled with a wide lumen, unbranched, interwoven, 2–5 µm diameter. *Hymenium:* *hymenial setae* frequent, ventricose, 11–21 × 4–6 µm; *cystidioles* and *chlamydospores* absent; *basidiospores* broadly ellipsoid or subglobose, hyaline, slightly thick-walled, smooth, IKI–, moderately CB+, 4–5 × 3 µm.

**Distribution:** *Fulvifomes glaucescens* is well distributed in temperate and tropical regions, known in Ethiopia, Malawi, Sri Lanka, Malaysia, China, and in São Paulo state, Brazil (Chua et al., 2012; Dai, 2010; Pires & Gugliotta, 2016; Ryvardeen & Johansen, 1980). This is the first register for the Amazon region.

**Materials examined: BRAZIL. Roraima:** Viruá National Park, 03 Jul 2017, M.A. Silva & K.S. Cruz INPA287173, 04 Jul 2017, M.A. Silva & K.S. Cruz INPA287196/287279, 12 Jul 2017, M.A. Silva & K.S. Cruz INPA287223.

**Notes:** *Fulvifomes glaucescens* is mainly characterized by having small and yellowish pores. The specimens examined in our work showed a wide variation on *setae* size (11–21 × 4–6 µm), such characteristic similarly reported in other international (Larsen & Cobb-Pouille 1990; Ryvardeen &

Johansen 1980; Valenzuela et al. 2012) and Brazilian type works (Nuñez & Ryvarden 2000; Pires & Gugliota 2016).

***Fulvifomes grenadensis*** (Murrill) Murrill, Tropical Polypores: 83 (1915) Fig 2D

Basionym: *Pyropolyporus grenadensis* Murrill, North American Flora 9 (2): 107 (1908)

≡ *Phellinus grenadensis* (Murrill) Ryvarden, Norwegian Journal of Botany 19: 234 (1972)

*Basidiomata* annual to perennial, pileate, applanate projecting up to 120 mm, 100 mm wide and 40 mm thick at base, solitary; *hymenophore* broadly to narrowly sulcate and weakly zoned, smooth to cracked; *margin* acute to obtuse, entire or weakly lobed; *pore surface* dark reddish-brown; *pores* regular, circular 6–7 per mm; *context* homogeneous or with indistinct sulcate zones.

*Hyphal system* dimitic: *generative hyphae* hyaline, simple septate, tissue darkening in KOH, 1–3 µm diameter; *skeletal hyphae* dominant, brown, thick-walled with a wide lumen, unbranched, interwoven, 3–5 µm diameter. *Hymenium*: *hymenial setae*, *cystidioles*, and *chlamydospores* absent; *basidiospores* subglobose to ellipsoid, yellowish to hyaline, slightly thick-walled, smooth, IKI–, moderately CB–, 6–5 × 3–4 µm.

**Distribution:** *Fulvifomes grenadensis* is known in Africa Central, South America and in Alagoas, Bahia, Pernambuco, Rio Grande do Norte, Rio de Janeiro, Paraná, Pará and Santa Catarina states, Brazil (Maia et al. 2015; Ryvarden & Johansen, 1980, Soares et al. 2014). This is the first register for state of Amazonas.

**Materials examined:** BRAZIL. Amazonas: Experimental Station of Tropical Silviculture- ZF2, 31 May 2017, M.A. Silva & K.S. Cruz INPA287148.

***Fulvifomes inermis*** (Ellis & Everh.) Y.C. Dai, Fungal Diversity 45: 193 (2010) Fig 2E

Basionym: *Poria inermis* Ellis & Everh., Proc. Acad. Nat. Sci. Philad. 46: 322 (1894).

≡ *Phellinus inermis* (Ellis & Everhart) G. Cunn., Bull. N. Z. Dept. Sci. Industr. Res., Pl. Dis. Div. 164: 234 (1965).

*Basidiomata* annual, resupinate, solitary, leathery consistency and without odor or taste when fresh, more or less cracked appearance upon drying; *hymenophore* reddish brown, sometimes with a glaucous shade; *margin* rust-brown, very narrow; *pore surface* light brown to golden brown; *pores* regular, circular to angular, 5–7 per mm; *tubes* single layer; *context* homogeneous, very thin, yellowish-brown.

*Hyphal system* dimitic: *generative hyphae* simple septate, hyaline to pale yellowish, thin- to slightly thick-walled, frequently branched and septate, 2–3 µm diameter, tissue darkening in KOH; *skeletal hyphae* dominant, brown, thick-walled with a wide lumen, unbranched, interwoven, 2–4 µm

diameter. *Hymenium*: *hymenial setae*, *cystidioles*, and *chlamydospores* absent; *basidiospores* broadly ellipsoid, yellowish brown, slightly thick-walled, smooth, IKI–, moderately CB+, 4–5.5 × 3–4 μm.

**Distribution:** *Fulvifomes inermis* is known to China, New Zealand, and North America (Dai 2010; Buchanan P.K. & Ryvarden, L. 2000). This is the first register for Brazil.

**Materials examined:** **BRAZIL. Roraima:** Viruá National Park, 06 Jul 2017, *M.A. Silva & K.S. Cruz INPA287188*, 10 Jul 2017, *M.A. Silva & K.S. Cruz INPA287151*.

**Notes:** *Fulvifomes inermis* is mainly characterized by having annual to biannual, resupinate basidiomata. It had not yet been described or recorded in Brazil. This specimens basidiospores show a small size variation when compared to other materials described in North America (4–6 × 3–5 μm) and China (4–5.3 × 3.2–4.5 μm) (Dai, 2010). The spores size found in the examined material is closer to the American ones (4–5.5 × 3–4 μm), which might indicate a possible biogeographic characteristic. However, further studies, with the using of molecular techniques, are necessary to confirm this date.

*Fulvifomes kanehirae* (Yasuda) Y.C. Dai, Fungal Diversity 45: 196 (2010) Fig 2F

Basionym: *Polyporus kanehirae* Yasuda, in Lloyd, Bot. Mag., Tokyo 36: 85 (1922).

≡ *Phellinus kanehirae* (Yasuda) Ryvarden, Mycotaxon 38: 98 (1990).

*Basidiomata* perennial, pileate to laterally stipitate, applanate, projecting up to 60 mm, 90 mm wide and 150 mm thick at base, leathery and without odor or taste when fresh, light-weight and hard corky consistency when dry; *hymenophore* greyish brown, distinctly zonate with narrow sulcate, hirsute to tomentose; *margin* acute, yellowish-brown; *pore surface* brown to black; *pores* regular, circular, 5–7 per mm; *tubes* distinct layers; *context* distinctly duplex, a thin black line separating the lower dense layer from the upper tomentum.

*Hyphal system dimitic*: *generative hyphae* simple septate hyaline to pale yellowish, thin- to slightly thick-walled, frequently branched and septate, 3–5 μm diameter, tissue darkening in KOH; *skeletal hyphae* dominant, brown, thick-walled with a wide lumen, unbranched, interwoven, 4–7 μm diameter. *Hymenium*: *hymenial setae* frequent, mostly ventricose 19–30 × 7–11 μm; *cystidioles* and *chlamydospores* absent; *basidiospores* broadly ellipsoid, yellowish-brown, slightly thick-walled, smooth, IKI–, moderately CB+, 3–4 × 2–3 μm.

**Distribution:** This species is only known to China (Dai 2010). This is the first register for Brazil.

**Materials examined:** **BRAZIL. Amazonas:** Adolpho Ducke Forest Reserve, 24 Feb 2018, *M.A. Silva INPA287170*.

**Notes:** The presence of a double context, hook-shaped setae, and yellowish basidiospores are characteristics that differentiate *Fulvifomes kanehirae* from other species of the genus (Dai, 2010). Macroscopically, the examined specimen does not present significant variations compared to the first materials reported by Dai (2010). However, microscopically the hyphae setae (17–28 × 6–11 μm)

and the spores ( $3.1\text{--}3.9 \times 2.3\text{--}3 \mu\text{m}$ ) described by Dai (2010) are slightly smaller when compared to our material (setae:  $19\text{--}30 \times 7\text{--}11 \mu\text{m}$ ; spores:  $3\text{--}4 \times 2\text{--}3 \mu\text{m}$ ). Other species in Brazil like *Fulvifomes kanehirae* are *Fulvifomes durissimus*, *F. fastuosus*, and *F. rhytiphloeus*, but *F. kanehirae* is distinguishable by having a distinct double context, while all the other species mentioned have homogeneous context.

***Fulvifomes rimosus*** (Berk.) Fiasson & Niemelä, *Karstenia* 24(1): 26 (1984) Fig 2G

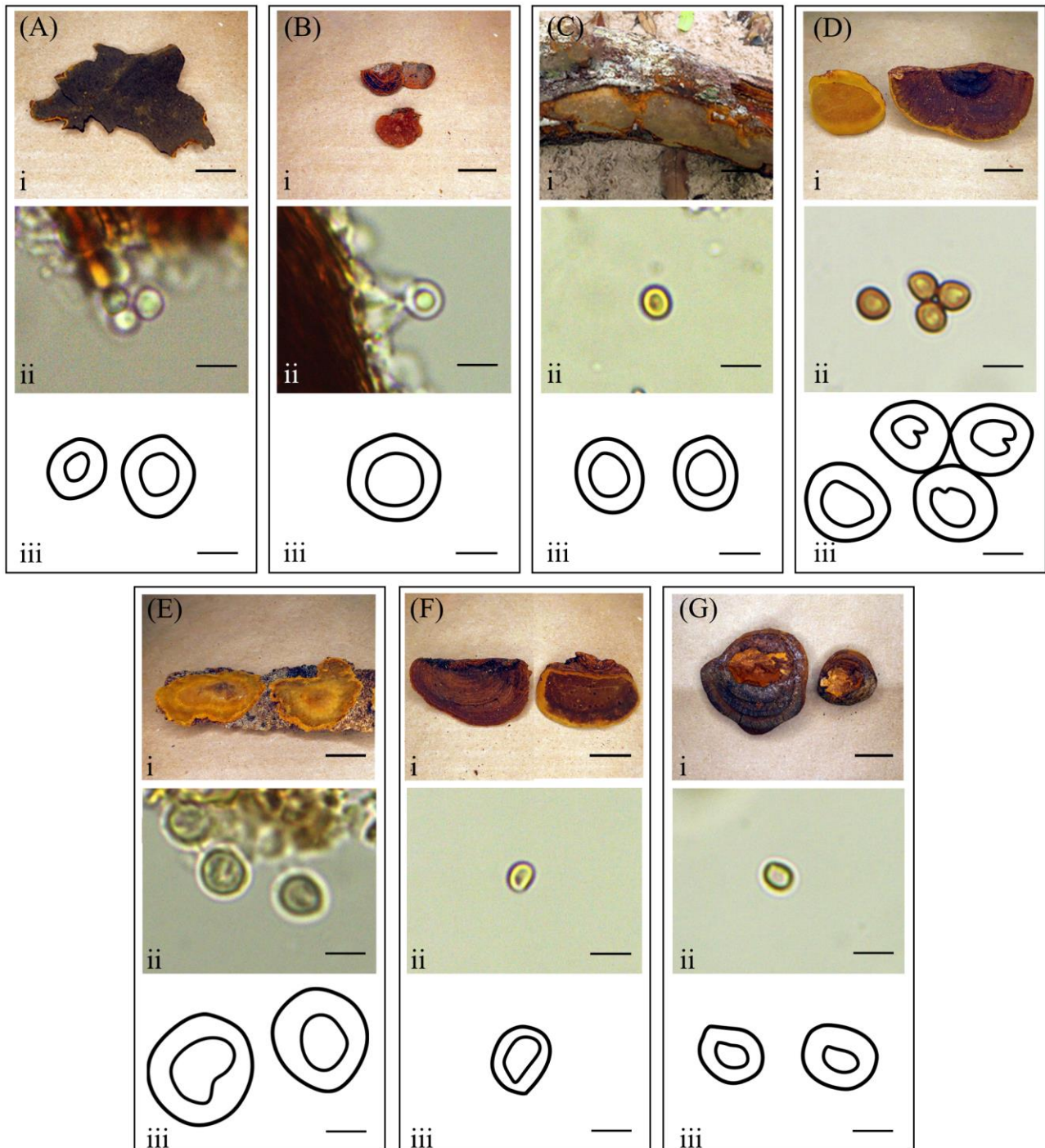
≡ *Phellinus rimosus* (Berk.) Pilát, *Annls Mycol.* 38(1): 80 (1940).

*Basidiomata* perennial, pileate, ungluate to triquetrous, projecting up to 100 mm, 80 mm wide and 30 mm thick at base, leathery consistency and without odor or taste when fresh, light-weight and hard corky consistency when dry; *hymenophore* greyish brown, distinctly zonate with narrow sulcate, hirsute to tomentose; *margin* acute, yellowish-brown; *pore surface* brown to black; *pores* regular, circular, 6–7 per mm; *tubes* distinct layers; *context* distinctly duplex, a thin black line separating the lower dense layer from the upper tomentum.

*Hyphal system* dimitic: *generative hyphae* simple septate hyaline to pale yellowish, thin- to slightly thick-walled, frequently branched and septate, 3–5  $\mu\text{m}$  diameter, tissue darkening in KOH; *skeletal hyphae* dominant, brown, thick-walled with a wide lumen, unbranched, interwoven, 4–7  $\mu\text{m}$  diameter. *Hymenium*: *hymenial setae* frequent, mostly ventricose  $19\text{--}30 \times 7\text{--}11 \mu\text{m}$ ; *cystidioles* and *chlamydospores* absent; *basidiospores* broadly ellipsoid, yellowish-brown, slightly thick-walled, smooth, IKI–, moderately CB+,  $3\text{--}4 \times 2\text{--}3 \mu\text{m}$ .

**Distribution:** *Fulvifomes rimosus* has a wide distribution in tropical regions (Ryvarden, 2004). In Brazil, it is known in São Paulo, and Rio Grande do Sul states (Campos-Santana et al., 2015; Pire & Gugliota, 2016). In the Amazon region, there one record for Amapá state (Soares et al., 2014), so this is the first record for Roraima state.

**Materials examined:** **BRAZIL. Amazonas:** Experimental Station of Tropical Silviculture- ZF2, 14 Apr 2013, M.A. Silva & M.A. Jesus INPA287246. **Roraima:** Viruá National Park, 04 Oct 2017, M.A. Silva & K.S. Cruz INPA287176/ 287282.



**Figure 2:** Macro and microscopic characteristics of *Fulvifomes* (i basidioma, ii spores photo, iii spores illustration). A *Fulvifomes cesatii*; B *Fulvifomes fastuosus*; C *Fulvifomes glaucescens* D *Fulvifomes grenadensis*; E *Fulvifomes inermis*; F *Fulvifomes kanehirae*; G *Fulvifomes rimosus*. Photography by Silva, M.A.

## DISCUSSION

All species reported here are new registers for the studied areas Adolpho Ducke Forest Reserve, Experimental Station of Tropical Silviculture- ZF2, and Viruá National Park. The most frequent species was *Fulvifomes fastuosus* (7), followed by *F. glaucescens* (4). *Fulvifomes fastuosus* was the only species recorded in all areas of our study. According to Flora do Brasil (2020), six

species of the *Fulvifomes* genus are cataloged in Brazil: *F. fastuosus*, *F. grenadensis*, *F. melleoporus*, *F. membranaceus*, *F. merrillii*, and *F. nilgheriensis*. All of them with a wide distribution.

Up to this study, only four *Fulviformes* species had been reported in the Amazon region: *Fulvifomes fastuosus*, *F. merrillii*, *F. nilgheriensis* e *F. rimosus* (Figure 2). From these, *Fulvifomes fastuosus* has a wide distribution in the country and is the only species found in all studied areas, which suggests a high degree of adaptability to different environmental conditions. This present study brought essential contributions to the knowledge on the biology and distribution of the genus in the Amazon region. Nonetheless, it is clear to see that as more studies are realized in these areas, the more the need for broadening and increasing the collection effort is observable. The *Fulvifomes* genus currently comprises about 60 species distributed worldwide and, this number may be even more significant if we consider the tendency to increase the discovery of new species as studies in tropical regions are intensified. Therefore, taxonomic revisions in herbarium collections and new field research can help in contributing to taxonomic resolutions and recognizing the diversity of the genus of *Fulvifomes* for the Amazon region.

## CONCLUSION

This study brings new registers for the Roraima and Amazonas states (*Fulviformes fastuosus* and *F. rimosus*), three new registers for the Amazon region (*F. cesatii*, *F. glaucescens*, and *F. grenadensis*), and two new registers for Brazil (*F. inermis* and *F. kanehirae*). This shows how much of this genus diversity in the Amazon has not yet been explored. Baseline studies in more regions of the Amazon with these species need to be done to estimate the real diversity of genus *Fulviformes*.

## ACKNOWLEDGMENTS

We are grateful to the Coordination for the Improvement of Higher Education Personnel (CAPES) for granting the doctoral scholarship that made this study possible the PRÓ-AMAZÔNIA 3251/2013 project for financial support. We also praise The Federal University of Amazonas (UFAM) and the National Institute for Amazonian Research (INPA) for the logistical support in the Amazon region.

## REFERENCES

Adarsh C.K., Vidyasagaran K., Ganesh P.N. 2019. The diversity and distribution of polypores (Basidiomycota: Aphyllophorales) in wet evergreen and shola forests of Silent Valley National Park,

southern Western Ghats, India, with three new records. *Journal of Threatened Taxa* 11(7): 13886–13909.

Baltazar J.M, Gibertoni T.B. 2009. A checklist of the aphylloroid fungi (Basidiomycota) recorded from the Brazilian Atlantic Forest. *Mycotaxon* 109: 439–442.

Baltazar J.M, Gibertoni T.B. 2010. New combinations in *Phellinus* s.l. and *Inonotus* s.l. *Mycotaxon* 111:205–208.

Bondartseva M.A., Herrera S., Sandoval D., Cejas F. 1992. Taxonomical problems of the Cuban Hymenochaetaceous fungi. *Mikol. Fitopatol.*, 26:1–13.

Campos Santana, M., Robledo G, Decock C, Silveira, R.M.B. 2015. Diversity of the poroid *Hymenochaetaceae* (Basidiomycota) from the Atlantic Forest and Pampa in Southern Brazil. *Cryptogamie Mycologie* 36:43–78.

Coelho G. 2005. A Brazilian new species of *Auriporia*. *Mycologia* 97(1): 266–270.

Dai Y.C. 2010. *Hymenochaetaceae* (Basidiomycota) in China. *Fungal Diversity* 45:131–343.

Ediriweera S.S., Wijesundera R.L.C., Nanayakkara C.M., Weerasena O.V.D.S.J. (2014). A new record of *Fulvifomes fastuosus* from Sri Lanka. *Journal of the National Science Foundation of Sri Lanka*, 42(4).

Fidalgo O. 1968. As microestruturas e sua importância na sistemática dos fungos superiores. *Rickia*, 3: 117-159.

Fidalgo O., Bononi V.L.R. 1984. Técnicas de coleta, preservação e herborização de material botânico. São Paulo: Instituto de Botânica, 62p.

Gilbertson R.L., Ryvardeen L. 1986. North American Polypores. *Fungiflora*, Oslo.

Gilbertson R.L., Ryvardeen L. 1987. North American Polypores. *Fungiflora*, Oslo.

Gugliotta A.M., Abrahão M.C., Gibertoni T.B., Chikowski R.S., Lira C.R.S., Gomes-Silva A.C., Araújo-Neta L. 2014. Lista de Espécies da Flora do Brasil. *Jardim Botânico do Rio de Janeiro*.



Hattori T., Sakayaroj J., Jones E.B.G., Suetrong S., Preedanon S., Klaysuban A. 2014. Three species of *Fulvifomes* (Basidiomycota, Hymenochaetales) associated with rots on mangrove tree *Xylocarpus granatum* in Thailand. *Mycoscience* 55:344–354.

Holf J.A., Klopfenstein N.B., Tonn J.R., McDonald G.I., Zambino P.J., Rogers J.D., Peever T.L., Carris L.M. 2004. Roles of Woody Root Associated Fungi. In: *Forest Ecosystem Processes: Recent Advances in Fungal Identification*. USDA Forest Service RMRS-RP-47, Rocky Mountain Research Station.

Loguercio-Leite C., Wright J.E. 1995. The genus *Phellinus* (*Hymenochaetaceae*) on the Island of Santa Catarina, Brazil. *Mycotaxon* 54: 361–388.

Mittermeier R.A., Mittermeier, C.G., Brooks, T.M., Pilgrim J.D., Konstant W.R., Fonseca G.A.B., Kormos C. 2003. Wilderness and Biodiversity Conservation. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 10018: 10309–10313.

Murrill W.A. 1914. Northern polypores. New York: Privately printed.

Núñez M., Ryvar den L. 2000. East Asian polypores 1. *Synopsis Fungorum* 13:1–168.

Pires R.M., Gugliotta A.D.M. 2016. Poroid *Hymenochaetaceae* (Basidiomycota) from Parque Estadual da Serra do Mar, Núcleo Santa Virgínia, São Paulo, Brazil. *Rodriguésia*, 67(3): 667–676.

Ryvar den, L., Johansen I.A. 1980 *Preliminary Flora of East Africa*. Oslo, Norway, *Fungiflora*, 636 p.

Ryvar den L. 1991. Genera of polypores: nomenclature and taxonomy. *Synopsis Fungorum* 5:1–363.

Ryvar den L. 2004. Neotropical Polypores. Part 1. Introduction, *Hymenochaetaceae* and *Ganodermataceae*. *Synopsis Fungorum* 19: 1–227.

Sakayaroj J., Preedanon S., Suetrong S., Klaysuban A., Jones E.B.G., Hattori T. 2012. Molecular characterization of basidiomycetes associated with the decayed mangrove tree *Xylocarpus granatum* in Thailand. *Fungal Diversity*, 56:145–156.

Soares A.M.S., Sotão H.M.P., Medeiros P.S., Gibertoni T.B. 2014. Riqueza de fungos poliporoides (Agaricomycetes, Basidiomycota) em uma floresta ombrófila densa no Amapá, Amazônia brasileira. Bol. Mus. Biol. Mello leitão (N. sér.) 35:5–18.

Teixeira A.R. 1962. As microestruturas do basidiocarpo e sistemática do gênero *Fomes* (Fries) Kickx. Rickia 1: 13–93.

Wagner T., Fischer M. 2002. Proceedings towards a natural classification of the worldwide taxa *Phellinus* s.l. and *Inonotus* s.l., and phylogenetic relationships of allied genera. Mycologia 94:998–1016.

Zhou L.W. 2014. *Fulvifomes hainanensis* sp. Nov. and *F. indicus* comb. Nov. (Hymenochaetales, Basidiomycota) evidenced by a combination of morphology and phylogeny. Mycoscience 55:70–77.

## 7. MANUSCRITO A SER SUBMETIDO (REVISTA ACTA AMAZONICA): LISTA DE ESPÉCIES DE FUNGOS POROIDES DIMÍTICOS DA FAMÍLIA *HYMENOCHAETACEAE* DE DOIS ESTADOS DA REGIÃO AMAZÔNICA (AMAZONAS E RORAIMA)

M.A. SILVA<sup>1\*</sup>, M.A. JESUS<sup>2</sup>, R.S. PERES<sup>2</sup>, C. SALES-CAMPOS<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> *Amazonas State University, Pos graduation of Biodiversity and Biotechnology Network of the Legal Amazon; Ave. Carvalho Leal, 1777 – Cachoeirinha, CEP: 69065-001 Manaus, AM, Brazil*

<sup>2</sup> *National Institute for Amazonian Research, Laboratory of Pathology of Wood; Ave. André Araújo, 2.936 – Petrópolis, CEP: 69067-375 Manaus, AM, Brazil*

\* CORRESPONDENCE TO: *cidoka83@gmail.com*

**RESUMO** — Este trabalho inclui análise de fungos da família *Hymenochaetaceae* com himênio dimítico resultando em 12 espécies distribuídas em 4 gêneros diferentes. Análises macroscópicas e microscópicas desses espécimes foram realizadas para encontrar caracteres importantes que distinguem cada espécie nesta região.

**PALAVRAS CHAVE** — Podridão branca, Amazônia, macrofungos, diversidade

### **Introdução**

Atualmente, a família *Hymenochaetaceae* é composta por fungos de podridão branca cujo o basidioma apresenta reação xantocroica positiva permanente, as hifas podem variar de amarelo até marrom, sendo as hifas generativas sempre com septo simples, seu sistema hifal pode ser monomítico ou dimítico, com ocorrência de estruturas setoides em algumas espécies (Ryvarden 2004). Por apresentar uma descrição muito ampla a sua circunscrição genérica sensu stricto está em constante mudança (Corner 1991).

O gênero *Phellinus*, apresenta o maior número de representantes da família, é um claro exemplo, sendo constantemente dividido com incremento de diversificadas técnicas de identificação como técnicas moleculares e bioquímicas, conseqüentemente, vários novos complexos são formados surgindo assim novos gêneros (Larsen e Cobb-poule 1990; Ryvarden 1991; Fischer 1996; Góes-Neto *et al.* 1999; Drechsler-Santos *et al.* 2016).

O advento das análises filogenéticas baseadas em material genético (DNA) traz à tona questões como espécies crípticas, que acabam por causar uma ruptura no conceito tradicional de espécies de fungos, sendo a família *Hymenochaetaceae* um dos principias grupos atingidos por esses novos dados

(Decock *et al.* 2005; Bickford *et al.* 2007; Amalfi *et al.* 2010; Campos-Santana *et al.* 2014). Estes estudos sugerem que a diversidade de espécies foi subestimada, quando se considera a morfologia ou a biogeografia (Decock *et al.* 2007; Baltazar *et al.* 2009; Baltazar *et al.* 2010; Raymundo *et al.* 2013; Valenzuela *et al.* 2013).

Novos gêneros foram introduzidos na família *Hymenochaetaceae* com base em dados filogenéticos moleculares, como por exemplo *Phellinopsis* Y. C. Dai (Dai 2010), *Arambarria* Rajchenb. & Pildain e *Nothophellinus* Rajchenb. (Rajchenberg *et al.* 2015), *Phellinotus* Drechsler-Santos, Robledo & Rajchenb. (Drechsler-Santos *et al.* 2016), *Sanghuangporus* Sheng H. Wu *et al.* (Zhou *et al.* 2016), *Rajchenbergia* Salvador-Montoya, Popoff & Drechsler-Santos (Salvador-Montoya *et al.* 2020). Os basidiomicetos poróides de modo geral vem sendo estudados em quase todo o Brasil durante as últimas décadas (Sotão *et al.* 1997, 2002, 2008; Drechsler-Santos *et al.* 2008; Campos-Santana e Loguercio-Leite 2008, 2010; Silveira *et al.* 2008; Baltazar e Gibertoni 2009; Campacci e Gugliotta 2009; Coelho *et al.* 2009; Gomes-Silva *et al.* 2009, 2012, 2013; Westphalen *et al.* 2010; Gerlach *et al.* 2013), no entanto, mundialmente o fungos hymenochaetoides vem sendo negligenciados (Baltazar e Gibertoni 2009; Baltazar *et al.* 2009; Gerlach *et al.* 2013). O presente artigo apresenta uma lista de fungos poróides *Hymenochaetaceae* da região Norte do Brasil coletadas em viagens de campo em dois diferentes estados Amazonas e Roraima. Doze espécies representando três gêneros foram identificadas. Todas as espécies eram anteriormente desconhecidas da área, e os intervalos de distribuição de várias espécies são estendidos. Estudos morfológicos críticos complementados por estudos filogenéticos baseados em DNA ainda são necessários para a circunscrição dos diferentes gêneros em *Hymenochaetaceae*.

## **Materiais e Métodos**

As coletas foram realizadas nos períodos chuvosos nos anos de 2016, 2017 e 2018 em três diferentes áreas na região amazônica: Reserva Florestal Adolpho Ducke e Estação Experimental de Silvicultura Tropical ZF-2 no estado do Amazonas e Parque Nacional do Viruá no estado de Roraima. Os procedimentos de coleta e herborização seguiu o método utilizado por Fidalgo & Bononi (1984). Os caracteres macro e microscópicos dos basidiomas foram analisados para identificar a amostras, seguindo as recomendações de Fidalgo (1968), Ryvardeen (1991, 2004), Teixeira (1962, 1995) e Dai (2010). O reagente de Melzer foi usado para verificar reações amiloides e dextrinoides em microestruturas. As dimensões dos basidiósporos foram obtidas seguindo as propostas por Coelho (2005). As principais chaves de identificação foram Larsen e Cobb-Pouille (1990), Gilbertson &

Ryvarden (1986), Gilbertson & Ryvarden (1987), Ryvarden (2004), Dai (2010). Todos os materiais coletados foram depositados no Herbário do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazonia.

## Resultados

### Taxonomia

#### *Hymenochaetaceae* Donk

1. *Fomitiporella americana* Y.C. Dai, X.H. Ji & Vlasák, in Ji, Vlasák, Zhou, Wu & Dai  
Mycologia 109(2): 316 (2017)

Tipificação—USA, Florida: Fort Myers, Six Miles Cypress Slough Reserve, on *Quercus* sp., 26 Dec 2003, JV 0312/26.6J (holotype PRM 935697, isotypes in JV, BJFC).

MATERIAL EXAMINADO—BRASIL, Roraima: Parque Nacional do Viruá, 12/XII/2017, Silva & Cruz 287199 (INPA).

2. *Fomitiporella resupinata* (Douanla-Meli & Ryvarden) Y.C. Dai, X.H. Ji & Vlasák, in Ji, Vlasák, Zhou, Wu & Dai Mycologia 109(2): 318 (2017)

Sinônimo—*Phylloporia resupinata* Douanla-Meli & Ryvarden [as ‘resupinatus’], in Douanla-Meli, Ryvarden & Langer, Nova Hedwigia 84:416. 2007 (Basionym).

Tipificação—Cameroon. Centre Province, Dept. Nyong & So’o, in the MFR, 11°54'E, 3°58'N, 500-650 m asl., Oyack II, 24.IX.2002, DMC 476, leg. C. Douanla-Meli, Holotype HUYI, Isotype O.

MATERIAL EXAMINADO—BRASIL, Roraima: Parque Nacional do Viruá, 10/XII/2017, Silva 287149 (INPA).

3. *Fomitiporella coruscans* (Murrill) Salvador-Montoya & Popoff, in Salvador-Montoya, Popoff, Goés-Neto & Drechsler-Santos, Pl. Syst. Evol. 306(no. 34): 16 (2020)

Sinônimo—*Fuscoporella coruscans* Murrill, N. Amer. Fl. 9(1): 7. 1907.

MATERIAL EXAMINADO —BRASIL, Amazonas: Estação Experimental de Silvicultura Tropical, 03/III/2016, Silva & Couceiro 287237,287239 (INPA); Reserva Florestal Adolpho Ducke, 03/III/2018, Silva 287266 (INPA). Roraima: Parque Nacional do Viruá, Silva & Cruz 287266 (INPA). Roraima: Parque Nacional do Viruá, 10/XII/2017, Silva & Cruz 287153 (INPA), 11/XII/2017, Silva & Cruz 287158 (INPA), 05/X/2017, Silva & Cruz 287198 (INPA), 06/X/2017, Silva & Cruz 287187 (INPA).

4. *Fuscoporia chrysea* (Lév.) Baltazar & Gibertoni, Mycotaxon 111: 206 (2010)

Basiônimo—*Polyporus chryseus* Lév., Ann. Sci. Nat., Bot., sér. 3 5: 301 (1846).

MATERIAL EXAMINADO—BRASIL, Amazonas: Reserva Florestal Adolpho Ducke, 18/XI/2017, Silva 287206 (INPA).

**5. *Fuscoporia contigua* (Pers.) G. Cunn., Bull. N.Z. Dept. Sci. Industr. Res., Pl. Dis. Div. 73: 4 (1948)**

Basiônimo—*Boletus contiguus* Pers.: Fr., 1801 (Espèce CD\_NOM = 516441)

Sinônimo—*Phellinus contiguus* (Pers.: Fr.) Pat., 1928 (Espèce CD\_NOM = 43847)

MATERIAL EXAMINADO—BRASIL, Amazonas: Estação Experimental de Silvicultura Tropical, 02/III/2016, Silva & Jesus 287235 (INPA); Reserva Florestal Adolpho Ducke, 18/XI/2017, Silva 287227 (INPA).

**6. *Fuscoporia gilva* (Schwein.) T. Wagner & M. Fisch., Mycologia 94(6): 1013 (2002)**

Basiônimo—*Boletus gilvus* Schw., Schrift Nat Ges Leipzig 1: 96, 1822

Sinônimo—*Phellinus gilvus* (Schw.: Fr.) Pat., Essai Taxon, p. 97, 1900.

MATERIAL EXAMINADO—BRASIL, Amazonas: Estação Experimental de Silvicultura Tropical, 02/III/2016, Silva & Jesus 287251 (INPA), 03/III/2016, Silva & Jesus 287234, 287235, 287258 (INPA); 04/III/2016, Silva & Jesus 287244 (INPA), 29/V/2016, Silva 287143 (INPA), 07/VI/2016, Silva & Jesus 287240, 287255 (INPA); Reserva Florestal Adolpho Ducke, 24/II/2016, Silva 287168 (INPA), 28/IV/2016, Silva & Martins 287273, 13/II/2017, Silva & Couceiro 287261 (INPA), 05/X/2010, Silva & Cruz 287276 (INPA), 17/XI/2017, Silva 287204 (INPA), 19/XI/2017, Silva 287203, 287205, 287231 (INPA), 25/II/2018, Silva & Cruz 287175, 287182, 287283 (INPA), 24/II/2018, Silva 287278, 287288, 287290 (INPA), 26/II/2018, Silva 287167 (INPA), 28/II/2018, Silva 287183, 287185, 287285 (INPA), 03/III/2018, Silva 287289 (INPA). Roraima: Parque Nacional do Viruá, 10/VII/2017, Silva 287152 (INPA), 12/VII/2017, Silva 287207 (INPA), 04/X/2017, Silva 287189, 287192 (INPA), 05/X/2017, Silva & Cruz 287197, 287286 (INPA), 06/X/2018, Silva & Cruz 287177, 287181, 287191, 287195 (INPA), 21/VIII/2018, Silva 287216, 287217 (INPA), 26/VIII/2018, Silva 287219, 287220 (INPA).

**7. *Fuscoporia senex* (Nees & Mont.) Ghob.-Nejhd., in Ghobad-Nejhad & Dai, Mycotaxon 101: 208 (2007)**

Basiônimo—*Polyporus senex* Nees & Mont., Ann. Sci. Nat. Sér. 2, 5: 70, 1836.

Sinônimo—*Phellinus senex* (Nees & Mont.) Imazeki

MATERIAL EXAMINADO—BRASIL, Amazonas: Reserva Florestal Adolpho Ducke, 19/V/2016, Silva & Couceiro 287270, 287274 (INPA). Roraima: Parque Nacional do Viruá, 21/VIII/2018, Silva 287210 (INPA).

8. *Rajchenbergia tenuissima* (H.Y. Yu, C.L. Zhao & Y.C. Dai) Salvador-Montoya, Drechsler-Santos & Popoff, in Salvador-Montoya, Popoff, Goés-Neto & Drechsler-Santos, Pl. Syst. Evol. 306(no. 34): 24 (2020)

Basiônimo—*Inonotus tenuissimus* H.Y. Yu, C.L. Zhao & Y.C. Dai, Mycotaxon 124: 64 (2013)

Sinônimo—*Fomitiporella tenuissima* (H.Y. Yu, C.L. Zhao & Y.C. Dai) Y.C.

Dai, X.H. Ji & Vlasák, in Ji, Vlasák, Zhou, Wu & Dai, Mycologia 109(2): 319 (2017).

MATERIAL EXAMINADO—BRASIL, Amazonas: Reserva Florestal Adolpho Ducke, 22/VIII/2018, Silva 287212 (INPA).

9. *Tropicoporus guanacastensis* L.W. Zhou, Y.C. Dai & Vlasák, in Zhou, Vlasák, Decock, Assefa, Stenlid, Abate, Wu & Dai, Fungal Diversity 77: 343 (2015)

Holotipo—COSTA RICA. Guanacaste, Santa Rosa National Park, on dead standing angiosperm tree, 2 August 2014, JV 1408–25 (holotype in IFP, isotype in JVDdescription: Li-Wei Zhou et al (2014).

MATERIAL EXAMINADO—BRASIL, Roraima: Parque Nacional do Viruá, 287212 (INPA).

10. *Tropicoporus linteus* (Berk. & M.A. Curtis) L.W. Zhou & Y.C. Dai, in Zhou, Vlasák, Decock, Assefa, Stenlid, Abate, Wu & Dai, Fungal Diversity 77: 344 (2015)

Basiônimo—*Polyporus linteus* Berk. & M.A. Curtis, Proceedings of the American Academy of Arts and Sciences 4: 122 (1858).

Sinônimo—*Phellinus linteus* (Berk. & M.A. Curtis) Teng, Zhong Guo De Zhen Jun [Fungi of China]: 762 (1963).

MATERIAL EXAMINADO—BRASIL, Amazonas: Estação Experimental de Silvicultura Tropical, 03/III/2016, Silva 287253 (INPA), 07/VI/2016, Silva & Jesus 287247 (INPA). Roraima: Parque Nacional do Viruá, Silva & Cruz 287174 (INPA).

11. *Tropicoporus melleoporus* (Murrill) Salvador-Montoya & Drechsler-Santos, in Salvador-Montoya, Popoff, Goés-Neto & Drechsler-Santos 2020

Basiônimo—*Fomitiporella melleopora* Murrill, N. Amer. Fl. (New York) 9(1): 13 (1907).

Sinônimo—*Fomitiporella langloisiana* Murrill, North American Flora 9 (1): 13 (1907)

MATERIAL EXAMINADO—BRASIL, Amazonas: Reserva Florestal Adolpho Ducke, 19/V/2016, Silva & Couceiro 287268 (INPA).

**12. *Tropicoporus stratificans*** G. Coelho & Yurchenko, in Coelho, Silveira, Antoniolli & Yurchenko, Phytotaxa 245(2): 147 (2016)

Tipo—BRAZIL. Rio Grande do Sul State: Municipality of Santa Maria, 9 Nov 2011, G. Coelho (Holotype, SMDB 14730).

MATERIAL EXAMINADO—BRASIL, Amazonas: Reserva Florestal Adolpho Ducke, 25/II/2018, Silva 287229 (INPA).

### **Agradecimentos**

Agradecemos a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de doutorado. Projeto PRÓ-AMAZÔNIA 3251/2013 para apoio financeiro

### **Literatura citada**

Amalfi, M.; Yombiyeni, P.; Decock, C. 2010. *Fomitiporia* in sub-Saharan Africa: morphology and multigene phylogenetic analysis support three new species from the Guineo Congolian rainforest. *Mycologia* 102(6): 1303–1317. <https://doi.org/10.3852/09-083>.

Baltazar, J.M.; Gibertoni, T.B. 2009. A checklist of the aphyllorphoroid fungi (Basidiomycota) recorded from the Brazilian Atlantic Forest. *Mycotaxon* 109: 439–442. <https://doi.org/10.5248/109.439>.

Baltazar, J.M.; Trierveiler-Pereira, L.; Loguercio-Leite, C.; Ryvardeen, L. 2009. Santa Catarina Island mangroves 3: a new species of *Fuscoporia*. *Mycologia* 101(6): 859–863. <https://doi.org/10.3852/08-082>.

Baltazar, J. M.L.; Ryvardeen, R.; Gibertoni, T.B. 2010. The genus *Coltricia* in Brazil: new records and two new species. *Mycologia* 102: 1253–1262. <https://doi.org/10.3852/09-227>.



- Bickford, D.; Lohman, D.J.; Sodhi, N.S.; Ng., P.K.; Meier, R.; Winker, K,...Das, I. 2007. Cryptic species as a window on diversity and conservation. *Trends in Ecology & Evolution* 22(3): 148–155. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2006.11.004>.
- Campacci, T.V.S.; & Gugliotta, A.D.M. 2009. A review of Amauroderma in Brazil, with *A. oblongisporum* newly recorded from the neotropics. *Mycotaxon* 110, 423–436. <https://doi.org/10.5248/110.423>.
- Campos-Santana, M.; Loguercio-Leite, C. 2008. First records of xylophilous Basidiomycetes (Fungi) in Mondaí, Santa Catarina (Southern Brazil). *Biotemas* 21(2): 19–26. <https://10.5007/2178-4574.2009v38p1>.
- Campos-Santana, M.; Loguercio-Leite, C. 2010. Mycodiversity of xylophilous basidiomycetes (Basidiomycota, Fungi) in Mondaí, Santa Catarina, Brazil II: a new addition. *Biotemas* 23(1): 13–18. <https://doi.org/10.5007/2175-7925.2010v23n1p13>.
- Campos-Santana, M.; Amalfi, M.; Robledo, G.; Silveira, R.M.B.; Decock, C. 2014. *Fomitiporia neotropica*, a new species from South America evidenced by multilocus phylogenetic analyses. *Mycological progress* 13(3): 601–615. <https://doi.org/10.1007/s11557-013-0943-1>.
- Coelho, G.; Reck, M.; Silveira, R.M.B.; Guerrero, R.T. 2005. *Ceriporia spissa* (Schwein. ex Fr.) Rajchenb. (Basidiomycota): First record from Brazil. *Biociências*, Porto Alegre 13(2): 107–111.
- Corner, E.J.H. 1991. Polyporaceas. VII. The Xantochroic Polypores. Beihefte Zur. *Nova Hedwigia* 101.
- Dai, Y.C. 2010. *Hymenochaetaceae* (Basidiomycota) in China. *Fungal Diversity* 45(1): 131–343. <https://doi.org/10.1007/s13225-010-0066-9>.
- Decock, C.; Bitew, A.; Castillo, G. 2005. *Fomitiporia tenuis* and *Fomitiporia aethiopica* (Basidiomycetes, Hymenochaetales), two undescribed species from the Ethiopian highlands: taxonomy and phylogeny. *Mycologia* 97(1): 121–129. <https://doi.org/10.1080/15572536.2006.11832845>.
- Decock, C.; Figueroa, S.H.; Robledo, G.; Castillo, G. 2007. *Fomitiporia punctata* (Basidiomycota, Hymenochaetales) and its presumed taxonomic synonyms in America: taxonomy and phylogeny of some species from tropical/subtropical areas. *Mycologia* 99(5): 733–752. <https://doi.org/10.1080/15572536.2007.11832537>.

Drechsler-Santos, E. R.; Groposo, C.; Loguercio-Leite, C. 2008. Additions to the knowledge of lignocellulolytic basidiomycetes in forests from Santa Catarina, Southern Brazil. *Mycotaxon* 103: 197–200.

Drechsler-Santos, E.R.; Robledo, G.L.; Lima-Junior, N.C.; Malosso, E.; Reck, M.A.; Gibertoni, T.B.; Cavalcanti, M.Q.A.; Rajchenberg, M. 2016. *Phellinotus*, a new neotropical genus in the *Hymenochaetaceae* (Basidiomycota, Hymenochaetales). *Phytotaxa* 261: 218–239. <http://dx.doi.org/10.11646/phytotaxa.00.0.0>.

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

Fidalgo, O.; Bononi, V.L. 1984. (Coord.). Técnicas de coleta, preservação e herborização de material botânico. Instituto de Botânica, São Paulo. (Manual n. 4).

Fischer M. 1996. On the species complexes within *Phellinus*: *Fomitiporia* revisited. *Mycological Research* 100:1459–1467. [https://doi.org/10.1016/S0953-7562\(96\)80078-5](https://doi.org/10.1016/S0953-7562(96)80078-5).

Gerlach, A.D.C.L.; Campos-Santana, M.D.; Gutjahr, M.; Loguercio-Leite, C. 2013. Wood-decaying Agaricomycetes (Basidiomycota, Fungi): new records for the state of Santa Catarina, Brazil. *Acta Botanica Brasílica* 27(2): 460–463. <https://doi.org/10.1590/S0102-33062013000200019>.

Gilbertson, R.L.; Ryvarden, L. 1986–1987: North American polypores 1–2. *Fungiflora*, Oslo.

Góes-Neto, A. 1999. Polypore diversity in the State of Bahia, Brazil; a historical review. *Mycotaxon* 72: 43–56.

Gomes-Silva, A.C.; Ryvarden, L.; Gibertoni, T.B. 2009. New and interesting species of *Hymenochaetaceae* from the Brazilian Amazonia. *Mycological Progress* 8(4): 273. <https://doi.org/10.1007/s11557-009-0606-4>.

Gomes-Silva, A.C.; Ryvarden, L.; Gibertoni, T.B. 2012. Resupinate poroid fungi from tropical rain forests in Brazil: two new species and new records. *Mycological Progress* 11(4): 879–885. <https://doi.org/10.1007/s11557-011-0803-9>.

Gomes-Silva, A.C.; Ryvarden, L.; Gibertoni, T.B. 2013. *Inonotus amazonicus* sp. nov., *I. calcitratus* comb. nov. and notes on *Phylloporia* (*Hymenochaetaceae*, Agaricomycetes) from the Brazilian Amazonia. *Mycoscience* 54(2): 116–121. <https://doi.org/10.1016/j.myc.2012.09.005>.

Larsen MJ, Cobb-Poule LA. 1990. *Phellinus (Hymenochaetaceae): A survey of the world taxa*. Oslo, Norway., 206 p.

Rajchenberg, M.; Pildain, M.B.; Bianchinotti, M.V.; Barroetaveña, C. 2015. The phylogenetic position of poroid *Hymenochaetaceae* (Hymenochaetales, Basidiomycota) from Patagonia, Argentina. *Mycologia* 107(4): 754–767. <https://doi.org/10.3852/14-170>.

Raymundo, T.; Valenzuela, R.; Bautista-Hernández, S.; Esqueda, M.; Cifuentes, J.; Pacheco, L. 2013. El género *Fuscoporia* (Hymenochaetales, Basidiomycota) en México. *Revista mexicana de biodiversidad* 84: S50–S69. <https://doi.org/10.7550/rmb.31604>.

Ryvarden, L. 1991. Genera of polypores. Nomenclature and taxonomy. *Fungiflora*, 5, 336 p.

Ryvarden, L. 2004. Neotropical Polypores. Part 1. Introduction, *Hymenochaetaceae* and *Ganodermataceae*. *Synopsis Fungorum* 19: 1–227.

Salvador-Montoya, C.A.; Popoff, O.F.; Góes-Neto, A.; Drechsler-Santos, E.R. 2020. Global phylogenetic and morphological reassessment of *Fomitiporella* s.l (Hymenochaetales, Basidiomycota): taxonomic delimitation of *Fomitiporella* s.s and segregation of *Rajchenbergia*, gen. nov. *Plant Systematics and Evolution* 306(2): 1–27. <https://doi.org/10.1007/s00606-020-01648-w>.

Silveira, R.M.B.D.; Reck, M.A.; Graf, L.V.; Sá, F.N.D. 2008. Polypores from a Brazilian pine forest in Southern Brazil: pileate species. *Hoehnea* 35(4): 619–630. <https://doi.org/10.1590/S2236-89062008000400012>.

Teixeira, A.R. 1962. As microestruturas do basidiocarpo e sistemática do gênero *Fomes* (Fries) Kickx. *Rickia* 1: 13–93.

Teixeira, A.R. 1995. Método para estudo das hifas do basidiocarpo de fungos poliporáceos. Manual nº 6. Instituto de Botânica, São Paulo.

Valenzuela R, Raymundo T, Cifuentes J. 2013. El género *Inonotus* s.l (Hymenochaetales: Agaricomycetes) en México. *Revista mexicana de biodiversidad* 84: 70–90. <https://doi.org/10.7550/rmb.31605>

Westphalen, M.C.; Reck, M.A.; Silveira, R.M.B.D. 2010. Fungos Poróides do Morro Santana, Rio Grande do Sul, Brasil. *Hoehnea*: 37(3): 647–662. <https://doi.org/10.1590/S2236-89062010000300010>.

**8. MANUSCRITO A SER SUBMETIDO (REVISTA CIÊNCIA & BIOTECNOLOGIA):  
IDENTIFICAÇÃO MORFOLÓGICA, MOLECULAR E BIOATIVIDADE DE EXTRATOS  
DE *Phellinus crystallis* sp. nov. (HYMENOCHATACEAE) .  
MORPHOLOGICAL AND MOLECULAR IDENTIFICATION AND BIOACTIVITY OF  
*Phellinus crystallis* sp. Nov. (HYMENOCHATACEAE)**

Maria Aparecida da Silva<sup>1</sup>; Antonia Queiroz Lima de Souza<sup>1,2</sup>; Maria Aparecida de Jesus<sup>3</sup>, Ceci Sales-Campos<sup>1,3</sup>.

1. Programa de Pós-Graduação Rede de Biodiversidade e Biotecnologia da Amazônia Legal – BIONORTE/ Universidade do Estado do Amazonas - UEA;

2. Faculdade de Ciências Agrárias/Universidade Federal do Amazonas - UFAM;

3. Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia - INPA.

## RESUMO

A região amazônica apresenta uma grande diversidade de fungos da família *Hymenochaetaceae*, que além de ter um importante papel ecológico na ciclagem de nutrientes, algumas espécies apresentam atividade antimicrobiana, anticancerígena e citotóxica. Portanto, membros dessa família apresentam um grande potencial para a descoberta de novos produtos com provável uso medicinal. Este trabalho mostra a identificação morfológica e molecular de *Phellinus crystallis*, uma espécie nova encontrada na Reserva Florestal Adolpho Ducke, além da análise de seus extratos proveniente do caldo de cultivo líquido e do micélio sobre atividades antimicrobianas, citotóxicas e parasitológicas. Os resultados morfológicos e moleculares confirmam a nova espécie. Apesar de os extratos não apresentarem atividade citotóxica para os testes realizados, os resultados antimicrobianos mostraram potencial bacteriostático para *Candida albicans*, *C. tropicalis*, *Enterococcus faecalis*, e atividade antiplasmódica para *Plasmodium falciparum*.

Palavras-chave: Basidiomicetos, antimicrobiano, atividade citotóxica, atividade antiplasmódica.

## ABSTRACT

The Amazon region presents a great diversity of fungi of the *Hymenochaetaceae* family, which besides having an important ecological role in the cycling of nutrients, some species have antimicrobial, anticancer and cytotoxic activity. Therefore, members of this family have great potential for the discovery of new products with probable medicinal use. This study shows the morphological and molecular identification of *Phellinus crystallis*, a new species found in the Adolpho Ducke Forest Reserve, in addition to the analysis of its extracts from liquid broth and

mycelium on antimicrobial, cytotoxic and parasitological activities. The morphological and molecular results confirm the new species. Despite not showing cytotoxic activity for the tests performed, the antimicrobial results showed bacteriostatic potential for *Candida albicans*, *C. tropicalis*, *Enterococcus faecalis*, and antiplasmodic activity for *Plasmodium falciparum*.

Keywords: Basidiomycetes, antimicrobial, cytotoxic activity, antiplasmodic activity.

## INTRODUÇÃO

Os fungos compõem o grupo de organismos vivos mais diversos da Terra, tanto pelo seu importante papel nos ecossistemas terrestres como para fins terapêuticos visto que, produzem uma variedade de metabólitos secundários associados a muitas atividades biológicas úteis para a medicina (ANGELINI et al., 2017; ANGELINI et al., 2018; WASSER, 2017). Dentre os fungos produtores de diferentes substâncias de interesse econômico tais como enzimas, antibióticos, vitaminas, aminoácidos e esteroides, destacam-se os fungos pertencentes ao filo Basidiomycota (SMOLSKAITE et al., 2015; GRÜNDEMANN et al., 2016).

As enzimas e os metabólitos secundários produzidos por esses fungos vêm recebendo considerável interesse devido ao seu grande potencial como fármacos e aplicações biotecnológicas (LARSSON et al., 2005). Também é importante ressaltar que o uso indiscriminado de antibióticos e outros agentes antimicrobianos têm induzido uma seleção de patógenos microbianos mais resistentes, que se deve a processos moleculares complexos de mutação e recombinação gênica, uma vez que os antibióticos atuam como agentes seletivos na população microbiana (DANISHUDDIN et al., 2012; LING et al., 2015).

As espécies mais estudadas na família *Hymenochaetaceae* são *Inonotus* (Fr.) Pilát, *Phellinus linteus* atual *Tropicoporus linteus* (Berk. & M.A. Curtis) L.W. Zhou & Y.C. Dai, *P. alni* atual *P. igniarius* (L.) Quél. e *P. baumii*. Estas espécies apresentam metabólitos com atividades antiinflamatória, analgésica, antioxidante e bons resultados no combate a diabetes, efeitos imunoestimulantes, combate do câncer gástrico e de pele (HAN et al., 2016; PARK, 2017; PARK et al., 2010). O mais recente estudo foi com *Sanghuangporus* sp Sheng H. Wu, L.W. Zhou & Y.C. Dai, que apresentou atividade antimicrobiana e nematicida (CHEPKIRUI et al., 2018).

Trabalhos recentes mostram que a família apresenta um grande potencial biotecnológico na indústria farmacêutica e de cosméticos (HAN et al., 2016; PARK, 2017). Em um universo de mais de 400 catalogadas, apenas cinco estão em estudo e, a nível de gênero, apenas três estão sendo investigadas (*Phellinus*, *Inonotus*, *Sanghuangporus*). Assim, observa-se um número baixo de estudo em relação ao quantitativo de espécies, o que sugere que a família apresenta um grande potencial ainda inexplorado. Nesse contexto, o presente trabalho visa a identificação morfológica e molecular

de uma espécie nova para a ciência, bem como avaliar a atividade antimicrobiana, antiplasmodial e citotóxica dos extratos provenientes do caldo de cultivo líquido e micélio dessa nova espécie.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### Local de coleta e identificação morfológica

O material foi coletado na Reserva Florestal Adolpho Ducke durante o período chuvoso (mês de fevereiro) dos anos de 2017 e 2018. A análise macroscópica do material coletado consistiu em observações detalhadas dos basidiomas com auxílio de uma lupa (LEICA S8APO). As mensurações foram feitas com régua e/ou paquímetro. As análises microscópicas foram baseadas nas observações das microestruturas de importância taxonômica conforme o gênero em questão, sendo realizadas 30 medições de cada uma das microestruturas encontradas. Para a ilustração das microestruturas foi utilizado um microscópio com câmera fotográfica acoplada (LEICA DM500). Os basidiomas foram depositados no Herbário do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia - INPA.

### Isolamento da cepa fúngica

O isolamento foi realizado no Laboratório de Patologia da Madeira do INPA (LPM/INPA). Fragmentos das amostras fúngicas foram desinfestados em solução de hipoclorito de sódio a 1% por 3 min, seguindo-se de lavagem em água deionizada esterilizada e secos em papel absorvente estéril. Posteriormente, os fragmentos foram colocados em placas de Petri contendo meio de cultivo (extrato de malte ágar) e mantidas em incubadora a 27 °C. Após o crescimento, as características microscópicas foram observadas em lâmina com água estéril, visando confirmar se as estruturas eram as mesmas descritas para basidiomicetos. Todos os isolados foram depositados na Coleção de Culturas de Microrganismos de Interesse Agrossilvicultural do INPA.

### Análises moleculares

As análises moleculares foram realizadas no Laboratório de Biotecnologia da Universidade Federal do Amazonas (UFAM) e foram divididas em quatro partes: extração, reações de PCR (Reação em Cadeia de Polimerase), equenciamento das amostras e análises filogenéticas. A região utilizada para os estudos foi a região ITS do DNA ribossomal, visto que é amplamente usado como barcoding neste grupo.

A extração do DNA foi realizada a partir da metodologia de GÓES-NETO et al., (2005), utilizado para quebra do material biológico o FastPreap. Para a reação de PCR foi utilizada um termociclador (TECHNE TC-512), onde foram adicionadas, em tubos, uma mistura equimolar de dNTPs (0,2 mM), cloreto de magnésio (1,5 mM), Taq DNA polimerase (0,125µl) e tampão de reação (1X) junto ao DNA e primers para um volume final de 25 µl. Os produtos das reações de PCR (5 µL)

assim como os de extração foram visualizados em gel de agarose a 1%, corados com brometo de etídio, sob luz UV e fotografados. A integridade e a quantificação do DNA foram determinadas por eletroforese em gel de agarose a 0,8%, visualizada em um transluminador ultravioleta Quantum (Viber Lourmat) e comparadas com a intensidade de concentrações do marcador phago  $\lambda$  (Invitrogen). A purificação dos produtos de PCR foi feita com o kit PureLink PCR Purification Kit (Invitrogen).

A reação de sequenciamento foi realizada com volume final de 10  $\mu$ L, sendo 0,5  $\mu$ L de Big Dye Terminator (v3.1) (Applied Biosystems), 1X tampão de sequenciamento, 20 ng de produto da PCR e 0,2  $\mu$ M de cada iniciador, além de água ultrapura q.s.p. no termociclador ProFlex-PCR Sistem (Applied Biosystems by Life Technologies). As amostras foram injetadas em um Analisador Genético por eletroforese capilar modelo ABI 3500 (Applied Biosystems by Thermo).

Os eletroferogramas da região ITS foram analisados separadamente no software Staden Package 2.0 (STADEN et al., 1998) e editados no programa MEGA6 (TAMURA et al., 2013). As sequências obtidas foram utilizadas para busca das mais similares depositadas no GenBank/NCBI, empregando a ferramenta BLASTn. As sequências foram alinhadas no ClustalX (LARKIN et al., 2007) e editadas em conjunto com as recuperadas da base de dados GenBank/NCBI também utilizando o programa MEGA6.

As árvores filogenéticas das espécies sequenciadas foram construídas a partir do método de máxima parcimônia (MP) e de máxima verossimilhança (MV), com 5000 reamostragens de bootstrap utilizando o programa MEGA6.

#### Produção de metabólitos secundários

A fermentação submersa em meio de culutra líquida foi realizada a partir da inoculação de 5 discos de micélios de 6 mm de diâmetros (provenientes das culturas puras), em meio líquido contendo batata, dextrose, acrescido de extrato de levedura (2%), pH inicial de 6,5, em frascos Erlenmeyer de 250 mL contendo 100 mL de meio de cultivo e incubado a 27 °C a 120 rpm durante 30 dias (SOUZA et al., 2004). Durante o período fermentativo, a cada 5 dias, avaliou-se as variações de pH, quantidade de proteína, densidade, glicose e presença de nitrito, utilizando-se uma fita de uroanálise (Uriclin 10/LABORCLIN), de modo a avaliar o final da fase estacionária e o início da morte celular. O cultivo foi realizado em triplicata. A separação da biomassa microbiana (micélio) e o caldo bruto foi feito através de filtração a vácuo para posterior obtenção dos extratos fúngicos.

#### Obtenção dos extratos fúngicos

Os metabólicos extracelulares do caldo fermentado foram extraídos através da adição de acetato de etila e isopropanol (P.A) (1:1 v/v), usando a técnica de separação líquido/líquido com a ajuda de um balão de separação de 500 mL (SOUZA et al., 2004).

No processo de extração dos metabólitos intracelulares, o micélio foi macerado e acrescentado uma mistura de metanol e acetato de etila (1:1 v/v) com volume suficiente para encobrir toda a massa micelial. Esse sistema foi acondicionado por 48 horas a temperatura ambiente. A separação da biomassa foi feita com auxílio de um funil de Büchner e bomba de vácuo. No final da separação, a massa micelial foi descartada e o filtrado foi acondicionado em frascos para posterior concentração dos metabólitos.

Os extratos intra e extracelulares foram secos por evaporação em um evaporador rotativo, seguido de secagem completa com sílica em um dessecador. Os extratos secos foram acondicionados em frascos de vidro de amostras de 10 mL armazenados em geladeira a 8 °C.

#### Atividade antimicrobiana

##### Teste de susceptibilidade (Difusão em ágar/Técnica de poço)

As linhagens bacterianas utilizadas pertencem à bacterioteca da Plataforma de Bioensaios Biotecnológicos (RPT11H), do Instituto Leônidas e Maria Deane (ILMD) – Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), Manaus-AM, Brasil. As linhagens foram cultivadas previamente em caldo Brain Heart Infusion (BHI) (HIMEDIA). As culturas microbianas foram diluídas em meio de cultura conforme a escala de 0,5 de McFarland ( $1,5 \times 10^8$  UFC/mL). Todos os ensaios foram feitos em triplicata.

A determinação da atividade antibacteriana foi realizada pelo método de difusão em ágar, pela técnica do poço, segundo GROVE e RANDALL, (1955). As amostras testadas foram solubilizadas em dimetilsulfoxido (DMSO) 10%. Utilizou-se o meio de cultura Ágar Müeller Hinton (AMH) (HIMEDIA) para a realização dos testes. Como controle positivo foi utilizada a droga TIENAM (imipenem + cilastatina sódica) na concentração de 500 µg/mL.

##### Concentração inibitória mínima

Para testar a atividade antimicrobiana dos extratos fúngicos isolados de *Phellinus crystallis* (1838EM e 1838EC) foram utilizadas as cepas de quatro bactérias, sendo duas gram negativas, *Pseudomonas aeruginosa* e *Escherichia coli*, e duas gram positivas *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, além de duas cepas de fungos, *Candida albicans* e *C. tropicalis*, acessadas do Instituto Leônidas e Maria Deane (FIOCRUZ - AM). Para isto, foi adotado o método de avaliação da concentração inibitória mínima (CMI) seguindo o protocolo de Teixeira e colaboradores (TEIXEIRA et al., 2015).



### Atividade citotóxica

Para a realização do ensaio de citotoxicidade, os extratos fúngicos foram solubilizados em dimetilsulfoxido (DMSO 0,5%) e testadas nas concentrações de 5 mg/mL; 2,5 mg/mL; 1,25 mg/mL e 0,62 mg/mL

Neste teste utilizou-se a linhagem VERO (ATCC ® CCL-81 TM), adquirida a partir da American Type Culture Collection. Os ensaios foram determinados pela metodologia de AHMED et al. (1994). Como controle positivo foi utilizado o crescimento celular; como controle negativo foi utilizado DMSO 0,1%. Concentrações capazes de inibir a cima de 30% foi considerado citotóxico. A porcentagem de viabilidade celular foi lida numa leitora de placas de Elisa e calculada conforme a fórmula: % Viabilidade =  $F_t \times 100 / F_b$ . Onde  $F_t$  = fluorescência da célula + meio + substância + resazurina e  $F_b$  = fluorescência da célula + meio + resazurina.

### Avaliação antiplasmódica

A amostra foi solubilizada em dimetilsulfóxido (DMSO), com a concentração final nos poços de 0,5%, e avaliadas em diferentes concentrações (50 ug/mL, 25 ug/mL, 12.5 ug/mL, 6.25 ug/mL, 3.12 ug/mL, 1.56 ug/mL, 0.78 ug/mL e 0,39 ug/mL). A Cepa de *Plasmodium falciparum* (FRC3) foi cultivada em meio RPMI com 10% de plasma humano AB<sup>+</sup> e eritrócitos humanos normais em atmosfera baixa de oxigênio. Esta suspensão de eritrócitos infectados foi incubada a 37 °C em Candle Jar.

Os testes antimaláricos foram realizados no Instituto de Pesquisas Leônidas e Maria Deane (ILMD/FIOCRUZ – Amazonas) junto à subunidade RPT11H-Plataforma de Bioensaios Biotecnológicos-AM e a leitura foi realizada por meio da subunidade RPT08J-Citometria de fluxo-AM. Os testes para o estudo da atividade antimalárica foram realizados em placas de 96 poços de fundo chato. Para a avaliação da atividade antiplasmódica, o cultivo de *P. falciparum* foi realizado de acordo com AHMED et al. (1994), com parasitemia final a 1% e hematócrito a 2%. Os extratos foram solubilizados em DMSO (concentração final de 0,5% no poço), em diferentes concentrações (50 ug/mL, 25 ug/mL, 12.5 ug/mL, 6.25 ug/mL, 3.12 ug/mL, 1.56 ug/mL, 0.78 ug/mL e 0,39 ug/mL). Após 72 horas de incubação, as amostras foram lavadas com o tampão PBS (Tampão fosfato-salino) e brometo de etídio. Ao final, as amostras foram ressuspensas em 200 µl de PBS 1X para a análise no citômetro de fluxo BD FACSCanto II (BD Biosciences, San Jose, USA), no canal FL-1 com software Getting Started with BD FACSDiva™ e FlowJo™ versão 10. O crescimento parasitário em DMSO 0,5% foi utilizado como controle positivo, e eritrócitos não parasitados como controle negativo. A quinina foi utilizada como o fármaco de referência, testada nas mesmas concentrações das amostras avaliadas.

## RESULTADOS

### Identificação taxonômica

*Phellinus crystallis* Silva & Jesus, sp. nov. (Fig. 1)

Etimologia. “crystallis” (Lat.) a espécie apresenta numerosos cristais no contexto.

Classificação — *Hymenochaetaceae*, Hymenochaetales, Agaricomycetes.

Basidioma – Anual, efuso reflexo, agregado, firmemente preso ao substrato, não facilmente separável, sem odor ou sabor quando fresco, duro e rolhado quando seco, até 4 cm de comprimento, 5 cm de largura e 2 mm de espessura no centro; margem estéril castanho claro, com até 1 mm de largura. Poros de superfície castanho pálido quando seco; poros angulares, 7 a 8,0 por mm, revelam finos, inteiros quando juvenis, lacerado com a idade. Contexto homogêneo marrom amarelado a castanho-amarronzado. Tubos com superfície de poros, rolhados, com cerca de 1,6 mm de comprimento. Estrutura Hifal - Sistema Hifal Dimítico; septos simples; hifas esqueléticas IKI–, CB. Contexto - Hifas generativas pouco frequentes, hialinas a amareladas pálidas, de paredes ligeiramente espessas, não ramificadas, com incrustações, 2,5–3,0 µm em diâmetro; hifas esqueléticas pálidas amareladas a laranja-damasco, paredes espessas com um amplo lúmen, não ramificado, alguns colapsados, entrelaçados, 4–5 µm em diâmetro. Tubos - Hifas generativas hialinas a amareladas pálidas, finas a paredes espessas, não ramificadas 2,0 a 3,0 µm em diâmetro; hifas esqueléticas dominantes, amarelo pálido a laranja-damasco, paredes espessas e alguns colapsados, paralelo ao longo dos tubos, 3,0–4,5 µm em diâmetro. Elementos estéreis: Setas subhimenárias frequentes, ventricosas, afilamento para o ápice, marrom escuro, paredes espessas, 20-30 × 5-10,0 µm. Cistídios e cistídiolos ausentes. Basídio clavado, com quatro esterigmas e um septo simples na base. Cristais irregulares presente na trama e himênio. Esporos - Basidiosporos subglobosos, hialinos, de paredes finas, lisos, IKI–, CB–, 2,0x3,0 µm, L = 1,8 µm, W = 3,0 µm.

Características da cultura -Colônias em 2% de ágar e malte (Disco) plano, espalhado, principalmente sem micélio aéreo, de cor marrom claro, parte central mais escura sem micélio aéreo; margens regulares, crescimento lento.

Tipo: BRAZIL, AMAZONAS: Manaus, Reserva Florestal Adolpho Ducke, 3°0'27"S, 59°56'22.92"W, em tronco em decomposição, 28 Fev 2018, M.A Silva CMINPA 1838 (holotype INPA287186).

Material adicional: BRAZIL, AMAZONAS: Manaus, Reserva Florestal Adolpho Ducke, 3°0'27"S, 59°56'22.92"W, em tronco em decomposição, 7 Fev 2017, M.A Silva & D.M Couceiro (INPA287264).

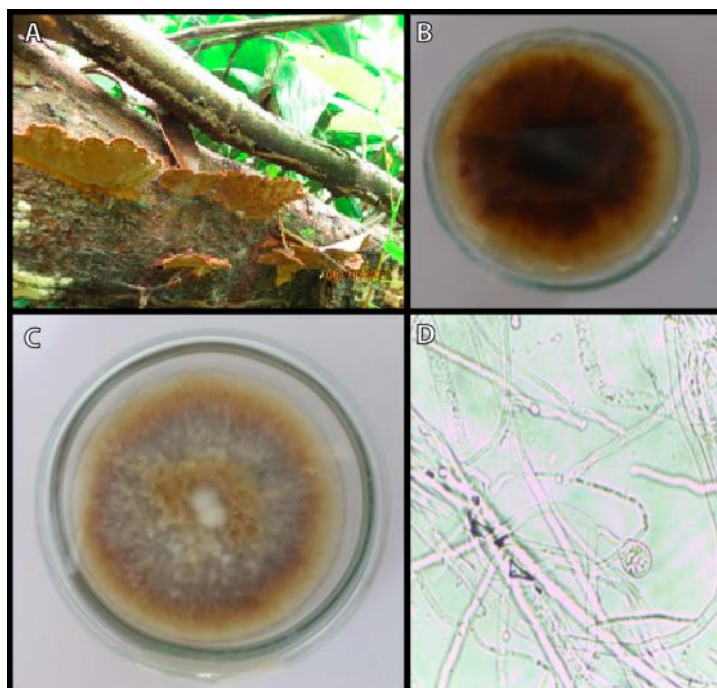


Figura 1. *Phellinus crystallis* sp. nov (CMINPA, 1938). A) Basidioma in situ. B) Vista superior da cultura. C) Vista inferior da cultura; D) Microestruturas da cultura (CMINPA, 1938).

#### Análises filogenéticas

A história evolutiva foi inferida usando o método da Máxima Verossimilhança e o modelo General Time Reversible (NEI e KUMAR, 2000). A árvore com a maior probabilidade de log (-1983,71) é mostrada na figura 2. A porcentagem de árvores nas quais os táxons associados se agruparam é mostrada ao lado dos ramos. A (s) árvore (s) inicial (is) para a busca heurística foram obtidas automaticamente pela aplicação dos algoritmos Neighbour-Join e BioNJ a uma matriz de distâncias pareadas estimadas usando a abordagem de máxima verossimilhança composta (MCL) e, em seguida, selecionando a topologia com valor de log de verossimilhança superior. Uma distribuição Gama discreta foi usada para modelar as diferenças de taxa evolutiva entre os locais [5 categorias (+ G, parâmetro = 0,8071)]. O modelo de variação da taxa permitiu que alguns sites fossem evolutivamente invariáveis ([+ I], 21,04% sites). Esta análise envolveu 14 sequências de nucleotídeos. As posições de códon incluídas foram 1<sup>a</sup> + 2<sup>a</sup> + 3<sup>a</sup> + não codificantes. Todas as posições contendo lacunas e dados perdidos foram eliminadas (opção de exclusão completa). Havia um total de 345 posições no conjunto de dados final. As análises evolutivas foram conduzidas no MEGA X (KUMAR et al., 2018).

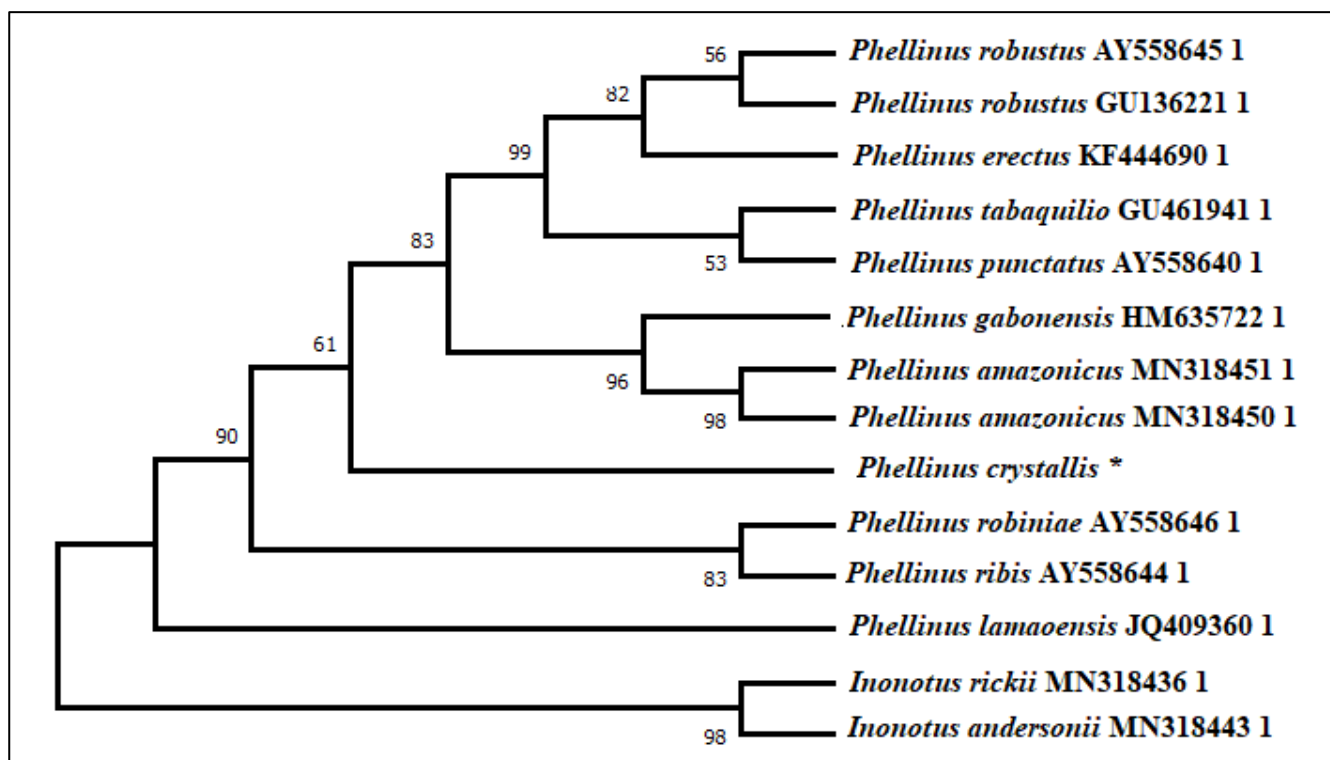


Figura 2. Árvores filogenética de 11 espécies selecionadas do gênero *Phellinus* (*Hymenochaetaceae*) e duas espécies do gênero *Inonotus* usadas como outgrup. Árvore de máxima verossimilhança composta (MCL), uma árvore NJ e BioNJ. Os valores de bootstrap (não menos que 50%) são indicados como porcentagens nos nós.

#### Atividade antimicrobiana

O extrato oriundo do micélio (1838EM) apresentou atividade bacteriostática para *E. faecalis* e fungistática para *C. albicans* e *C. tropicalis*, enquanto, o extrato do caldo de cultivo (1838EC) foi efetivo apenas para *E. faecalis* (Tabela 1).

Tabela 1. Atividade bacteriostática e fungistática dos extratos do micélio fúngico de do caldo de cultivo de *Phellinus crystallis*.

| Extratos<br>fúngicos | Microrganismos patogênicos |                    |                          |                |                    |                      |
|----------------------|----------------------------|--------------------|--------------------------|----------------|--------------------|----------------------|
|                      | <i>S.<br/>aureus</i>       | <i>E. faecalis</i> | <i>P.<br/>aeruginosa</i> | <i>E. coli</i> | <i>C. albicans</i> | <i>C. tropicalis</i> |
| 1838EM               | -                          | ++                 | -                        | -              | +                  | +                    |
| 1838EC               | -                          | +++                | -                        | -              | -                  | -                    |

(+++) Boa atividade, (++) Moderada atividade, (+) Pouco atividade, (-) Inativo

### Atividade citotóxica

No ensaio de citotoxicidade *in vitro* frente às células VERO (ATCC ® CCL-81 TM) e tratadas com as amostras nas concentrações que variaram de 5 mg/mL a 0,62 mg/mL, quando comparado ao controle, não apresentou efeito citotóxico superior a 30%. Portanto, considerado significativo a viabilidade celular, tanto para o extrato obtido no micélio (1838EM) quanto para os extratos no caldo de cultivo (1838EC) (Figura 3).

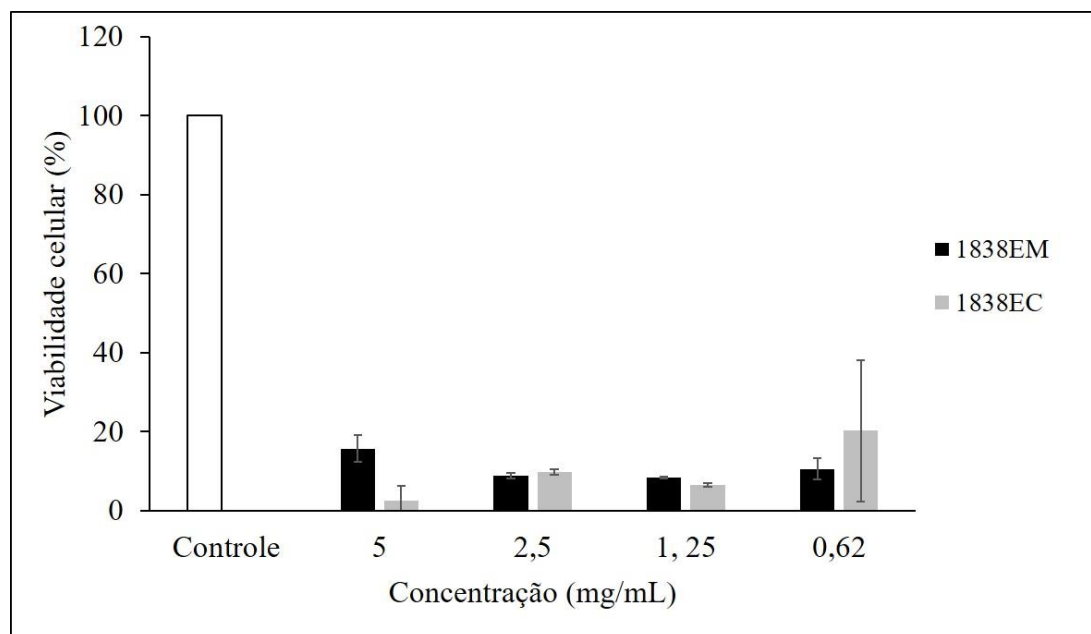


Figura 3. Viabilidade celular das linhagens VERO (ATCC ® CCL-81 TM) em diferentes concentrações dos extratos provenientes do micélio (1838EM) e do caldo de cultivo (1838EC) de *Phellinus crystallis*. DMSO: dimetilsulfóxido (controle positivo).

### Avaliação antiplasmódica

Os testes *in vitro* com os extratos do micélio e do caldo de cultivo, contra *Plasmodium falciparum* FCR3, não apresentaram efeito antiplasmódico, quando comparado à atividade da quinina (fármaco-referência) nas concentrações de 3,12 µg/mL até 0,39 µg/mL (Figura 4). Contudo, o extrato 1838EM a partir da concentração 6,25 µg/mL apresenta um declínio no eixo Parasitemia/fluorescência (P/F) tendo seus menores pontos nas concentrações de 50, 12,5 e 25 µL/mL quando o eixo P/F diminui de 7, seu valor máximo, para 5. Assim, exibiu um potencial antiplasmódico, quando testado nas concentrações de 50 e 25 µL/mL, que pode ser evidenciado com futuras etapas de purificação de biomoléculas desse fungo.

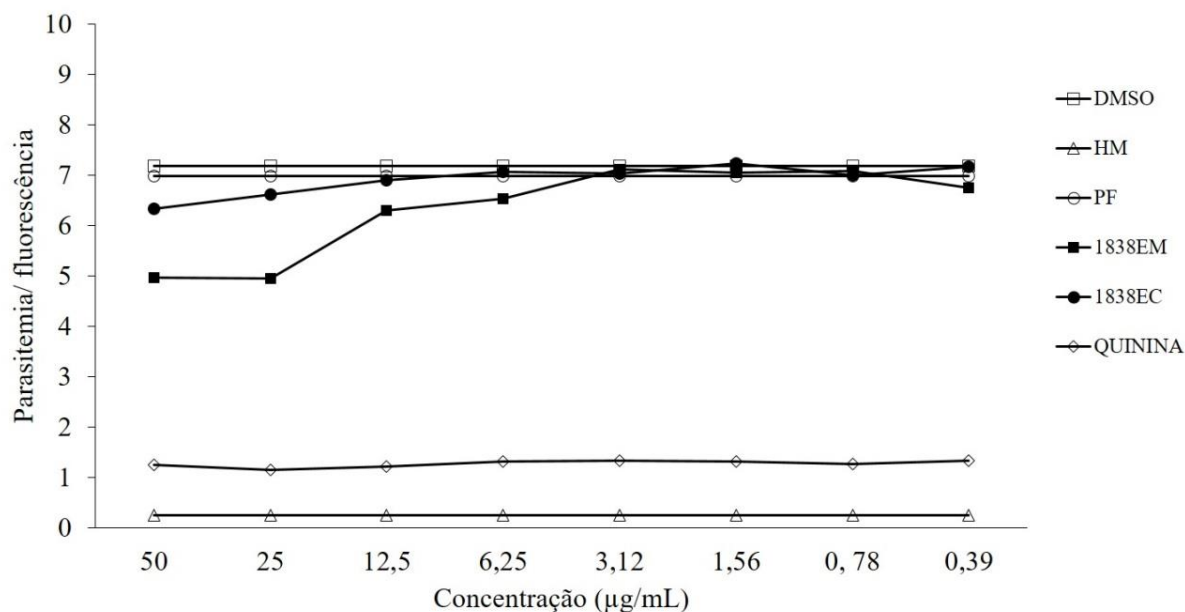


Figura 4. Curvas de dose-resposta normalizadas das diferentes concentrações dos extratos provenientes do micélio (1838EM) e do caldo de cultivo (1838EC) de *Phellinus crystallis*, testadas no ensaio de atividade antiplasmodial *in vitro* baseado em fluorescência, com o uso do quinina como fármaco controle negativo. DMSO: dimetilsulfóxido (controle negativo), HM: hemácias saudáveis (controle positivo), PF: *Plasmodium falciparum*.

## DISCUSSÃO

### Taxonomia e filogenia

*Phellinus crystallis* apresenta como características marcantes a presença de basidioma efuso-reflexo marrom castanho; microscopicamente apresenta setas ventricosas e basidiósporos hialinos subglobosos além disso apresenta dispersos na trama e himênio cristais irregulares.

As análises morfológicas mostraram que os espécimes analisados se aproximavam de *P. lundellii* Niemelä e *P. tuberculosis* Niemelä descrita por DAI (2010) pois, apresentam basidiomas efuso-reflexo com parte do corpo de frutificação completamente preso ao substrato. No entanto, os espécimes analisados se diferenciam de *P. lundellii* microscopicamente no tamanho das setas (13-18 x 4-6µm) serem menores e o tamanho dos esporos (4,6-5,8 x 3,7-4,8 µm) maiores. Com relação à *P. tuberculosis*, macroscopicamente apresenta basidioma com maiores dimensões (15 x 8 x 4cm) e, microscopicamente, as setas são consideravelmente menores (10-12 x 4,6-6,5).

Quando comparados aos trabalhos com espécies de *Phellinus* no Brasil se assemelham a três diferentes espécies: *P. extensus* (Lév.) Pat., *P. shafteri* (Murrill) Ryvardeen e *Tropicoporus linteus* (Berk. & M.A. Curtis) L.W. Zhou & Y.C. Dai (CAMPOS-SANTANA et al., 2015; GOMES-SILVA et al., 2012). *T. linteus* apresenta esporos subglobosos e maiores (4,3-5,5x3,8-4,8 µm) que os

analisados nos espécimes deste trabalho (2,0x3,0 µm) (GOMES-SILVA et al., 2012). Com relação a *P. extensus*, ambos apresentam esporos globosos, no entanto, o tamanho diverge sendo os esporos de *P. extensus* (3,0-4,0 µm) maior que os analisados neste trabalho. Ao passo que, em *P. shaferei* as espécies se diferenciam tanto macroscopicamente, visto que, o basidioma de *P. shaferei* é totalmente ressupinado, quanto microscopicamente tendo suas setas menores (15-23 x 5,5-10 µm) e esporos maiores (3,5-4,5 x 3-4 µm) e subglobosos (CAMPOS-SANTANA et al., 2015).

As análises filogenéticas foram feitas a partir de sequências que apresentaram um grau de similaridade maior que 90%, comparadas às sequências já depositadas na plataforma GenBank. Todas as espécies apresentam duas características constantes: basidioma efuso-reflexo exceto *P. amazonicus* Camp. -Sant. & Decock que apresenta basidioma ressupinado e distribuição latitudinal. Vários trabalhos mostram que alguns grupos de fungos possuem distribuição geográfica restrita a alguns tipos de ambiente bem como sua morfologia pode ser interferida pelo ambiente (DECOCK et al., 2007; MOREIRA et al., 2017; KIVLIN et al., 2011; WU et al., 2013).

Trabalhos recentes mostram que *Phellinus* spp. mesmo dentro do mesmo país podem se apresentar como espécies diferentes, dependendo da região climática onde é encontrado, e mesmo sendo na mesma região os microclimas ainda podem interferir na distribuição destas espécies (CAMPOS-SANTANA et al., 2013; LIMA et al., 2018; ALVES-SILVA et al., 2020 a,b). Esses trabalhos, portanto, corroboram com a árvore filogenética montada com espécies que são, em sua maioria, como mesmo tipo de basidioma e que foram encontrados nos trópicos (Figura 2). Portanto, os clados formados para espécies de *Phellinus* apresentam influência de fatores ambientais. A árvore também mostra que a espécie analisada não apresenta similaridade significativa com nenhuma outra espécie que atualmente está inserida no banco de dados do GenBank, uma outra ferramenta que confirma a espécie como nova referência mundial.

#### Atividade antimicrobiana, citotóxica e parasitemia

É conhecido que vários membros da família *Hymenochaetaceae* apresentam atividade antimicrobiana BALAKUMAR et al., (2011) e RANADIVE et al., (2013) mostraram um levantamento das principais famílias de fungos que apresentam potencial antimicrobiano e vários gêneros foram relatados, com destaque para *Phellinus*. Os extratos analisados neste estudo apresentaram atividade bacteriostática *E. faecalis* e fungistática para *C. albicans*, *C. tropicalis*. Contudo, nos ensaios de Concentração Mínima Inibitória (CMI) não houve resposta positiva, o que indica que ensaios de purificação de moléculas, visando potencializar o efeito sobre as bactérias e fungos testados precisam ser realizados.

Estudos anteriores mostram que espécies da família *Hymenochaetaceae* apresentam atividade citotóxica sendo usados em tratamentos contra o câncer (ZOU et al., 2019; GÉRY et al., 2018;

CHEPKIRUI et al., 2018 a, b; DEVECI et al., 2019). Estudos especificamente com o gênero *Phellinus* também mostram resultados positivos com relação à atividade citotóxica (THAMMAVONG et al., 2021; THANH et al., 2017). Nesse estudo, os resultados obtidos pelo ensaio o MTT indica que as diversas concentrações de extratos tanto do micélio, quanto do caldo de cultivo não alteraram a viabilidade das linhagens VERO (ATCC ® CCL-81 TM) nos tempos experimentais de 24 e 48 h, indicando ausência de citotoxicidade dos extratos testados.

Os extratos apresentaram baixa atividade antiplasmódica quando comparado ao controle (quinina). No entanto, é evidente que para as concentrações mais elevadas (50 e 25 µg/mL) dos extratos do caldo e micélio há uma diminuição de parasitas. Até o presente momento, poucos estudos com atividade antiplasmódica têm sido relatados para fungos no Brasil. Análises da atividade antiplasmódica de algumas espécies da família *Hymenochaetaceae* realizados por SILVA et al., (2009) mostram que *Phellinus rimosus* apresentou atividade antiplasmódica para *Plasmodium falciparum*, o que corrobora o potencial das espécies deste gênero.

## CONCLUSÃO

O presente estudo traz uma primeira referência mundial para o gênero *Phellinus*, com a nova espécie *Phellinus crystallis*, referendada tanto por análises morfológicas quanto por análises moleculares.

Os extratos provenientes do caldo de cultivo e do micélio de *P. crystallis* apresentaram potencial bacteriostático para a bactéria *E. faecalis* e fungistático para os fungos *C. albicans* e *C. tropicalis*.

Com isso, este trabalho apresenta dados iniciais para maiores estudos de bioprospecção e purificação de moléculas a partir de *P. crystallis*, por análise *in vitro* e *in vivo* que possam viabilizar o potencial antimicrobiano, antiplasmódico e antifúngico para fins terapêuticos.

## AGRADECIMENTOS

Os autores deste trabalho agradecem à Universidade Estadual do Amazonas (UEA), à Universidade Federal do Amazonas (UFAM), ao Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA), e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo apoio financeiro e logístico concedidos a este projeto. À CAPES pelo fomento da pesquisa (Projeto CAPES/PRÓ-AMAZÔNIA 3251/2013). Ao Instituto de Pesquisas Leônidas e Maria Deane –ILMD (FIOCRUZ – Amazonas) pela realização dos testes de atividades antimicrobianas, plasmódicas e de citotoxicidade.



**REFERÊNCIAS**

ALI, N. A. A.; LÜDTKE, J.; PILGRIM, H.; LINDEQUIST, U. 1996. Inhibition of Chemiluminescence Response of Human Mononuclear Cells and Suppression of Mitogen-Induced Proliferation of Spleen Lymphocytes of Mice By Hispolon and Hispidin. **Pharmazie**, v.51, n.9, p.667–670.

ALI, N. A. A.; MOTHANA, R. A. A.; LESNAU, A.; PILGRIM, H.; LINDEQUIST, U. 2003. Antiviral Activity of Inonotus Hispidus. **Fitoterapia**, v.74, p.483–485. [http://doi.org/10.1016/S0367-326X\(03\)00119-9](http://doi.org/10.1016/S0367-326X(03)00119-9)

AHMED, S. A., GOGAL-JÚNIOR, R. M., WALSH, J. E. A new rapid and simple non-radioactive assay to monitor and determine the proliferation of lymphocytes: an alternative to [3H] thymidine incorporation assay. 1994. *J. Immunol. Methods*. 170, 211-224

ALVES-SILVA, G.; DRECHSLER-SANTOS, E.R.; SILVEIRA, R.M.B. 2020a. Bambusicolous *Fomitiporia* revisited: multilocus phylogeny reveals a clade of host-exclusive species. **Mycologia**, v.112, p.633–648. <https://doi.org/10.1080/00275514.2020.1741316>.

ALVES-SILVA, G.; RECK, M.A.; SILVEIRA, R.M.B.; BITTENCOURT, F.; ROBLEDO, G.L.; GÓES-NETO, A.; DRECHSLER-SANTOS, E.R. 2020b. The Neotropical *Fomitiporia* (Hymenochaetales, Basidiomycota): the redefinition of *F. apiahyna* s.s. allows revealing a high hidden species diversity. **Mycological Progress**, v.19, p.769–790. <https://doi.org/10.1007/s11557-020-01593-5>.

ANGELINI, P.; ARCANGELI, A.; BISTOCCHI, G.; RUBINI, A.; VENANZONI, R.; PERINI, C. 2017. Current Knowledge of Umbrian Macrofungi (Central Italy). **Plant Biosystems**, v.151, n.5, p.915–923. <http://doi.org/10.1080/11263504.2016.1265609>

ANGELINI, P.; TIRILLINI, B.; BISTOCCHI, G.; ARCANGELI, A.; RUBINI, A.; PELLEGINO, R. M.; FABIANI, R.; CRUCIANI, G.; VENANZONI, R.; ROSIGNOLI, P. 2018. Overview of the Biological Activities of a Methanol Extract from Wild Red Belt Conk, *Fomitopsis pinicola* (Agaricomycetes), Fruiting Bodies from Central Italy. **International Journal of Medicine Mushrooms**, v.20, n.11, p.1047–1063. <http://doi.org/10.1615/IntJMedMushrooms.2018028595>

BALAKUMAR, R.; SIVAPRAKASAM, E.; KAVITHA, D.; SRIDHAR, S. 2011. Antibacterial and antifungal activity of fruit bodies of *Phellinus* mushroom extract. **International Journal of Biosciences**, v.1, n.3, p.72-77.

CAMPOS-SANTANA, M.; DECOCK, C.; ROBLEDO, G.; SILVEIRA, R.M.B. 2015. Diversity of the Poroid *Hymenochaetaceae* (Basidiomycota) from the Atlantic Forest and Pampa in Southern Brazil. **Cryptogamie Mycologie**, v. 36, n. 1, p. 43–78.

CAMPOS-SANTANA, M.; AMALFI, M.; ROBLEDO, G.; SILVEIRA, R.M.B.; DECOCK, C. 2013. *Fomitiporia neotropica*, a new species from South America evidenced by multilocus phylogenetic analyses. **Mycological Progress**, v.13, p.601–615. <https://doi.org/10.1007/s11557-013-0943-1>

CHEPKIRUI, C.; CHENGA, T.; MATASYOHB, J.; DECOCK, C.; STADLER, M. 2018a. An unprecedented spiro [furan-2,1'-indene]-3-one derivative and other nematicidal and antimicrobial metabolites from *Sanghuangporus* sp. (*Hymenochaetaceae*, Basidiomycota) collected in Kenya. **Phytochemistry Letters**, v.25, n1, p.141–146. <https://doi.org/10.1016/j.phytol.2018.04.022>

CHEPKIRUI, C.; SUM, W.C.; CHENG, T.; MATASYOH, J.C.; DECOCK, C.; STADLER, M. 2018b. Aethiopinolones A–E, New Pregnenolone Type Steroids from the East African Basidiomycete *Fomitiporia aethiopica*. **Molecules**, v.23, n1, p.369. <http://doi.org/10.3390/molecules23020369>

DAI, Y. C. 2010. *Hymenochaetaceae* (Basidiomycota) in China. **Fungal Diversity**, v. 45, p. 131–343.

DANISHUDDIN, M.; KAUSHAL, L.; BAIG, M.H.; KHAN, A.U. 2012. AMDD: Antimicrobial drug database. **Genomics, Proteomics & Bioinformatics**, v.10, n.6, p.360-363.

DECOCK, C.; FIGUEROA, S. H.; ROBLEDO, G.; CASTILLO, G. 2007. *Fomitiporia punctata* (Basidiomycota, Hymenochaetales) and its presumed taxonomic synonyms in America: taxonomy and phylogeny of some species from tropical/subtropical areas. **Mycologia**, v.99, n.5, p.733-752. <http://doi.org/10.1080/15572536.2007.11832537>

DEVECİ, E.; TEL-ÇAYAN, G.; DURU, M.E.; ÖZTÜRK, M. 2019. Chemical constituents of *Porodaedalea pini* mushroom with cytotoxic, antioxidant and anticholinesterase activities. **Journal of Food Measurement and Characterization**, v.13, n.1, p.2686–2695. <https://doi.org/10.1007/s11694-019-00189-2>

GÉRY, A.; DUBREULE, C.; ANDRÉ, V.; RIOULT, J.P.; BOUCHART, V.; HEUTTE, N.; PÉCOULAS, P.E.; KRIVOMAZ, T.; GARON, D. 2018. Chaga (*Inonotus obliquus*), a Future Potential Medicinal Fungus in Oncology? A Chemical Study and a Comparison of the Cytotoxicity Against Human Lung Adenocarcinoma Cells (A549) and Human Bronchial Epithelial Cells (BEAS-2B). **Integrative Cancer Therapies**, v.17, n.3, p.832–843 <https://doi.org/10.1177/153473541875791>

GOMES-SILVA, A. C.; RYVARDEN, L. Two new species of *Phellinus* s. l . from the Brazilian Amazonia. **Phytotaxa**, n. 67: 55–60, 2012.

GROVE, D. C.; RANDALL, W. A., 1955. Assay Methods of Antibiotic: a Laboratory Manual. Medical Encyclopedia, New York.

GRÜNDEMANN, C.; ARNHOLD, M.; MEIER, S.; BÄCKER, C.; GARCIA-KÄUFER, M.; GRUNEWALD, F.; STEINBORN, C.; KLEMD, A.M.; WILLE, R.; HUBER, R et al. 2016. Effects of *Inonotus hispidus* Extracts and Compounds on Human Immunocompetent Cells. **Planta Medica**, v.82, n.15, p.1359–1367. <http://doi.org.10.1055/s-0042-111693>

HAN, J. et al. Species identity of *Phellinus linteus* (sanghuang) extensively used as a medicinal mushroom in Korea. **J. microbiol.**, v. 54, n. 4, p. 290–295, 2016.

KIVLIN, S.N.; HAWKES, C.V.; TRESEDER, K.K. 2011. Global diversity and distribution of arbuscular mycorrhizal fungi. **Soil Biology & Biochemistry**, v.43, p.2294-2303.

KUMAR, S.; STECHER, G.; LI, M.; KNYAZ, C.; TAMURA, K. 2018. MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across computing platforms. **Molecular Biology and Evolution**, v.35, p. 1547-1549.

LARKIN, M. A. Clustal W and Clustal X version 2.0. **Bioinformatics**, v. 23, p. 2947–2948, 2007.

LIMA, V.X.; NOGUEIRA-MELO, G.S.; BALTAZAR, J.M.; MEDEIROS, P.S.; SOARES, A. M.; LIRA, C.R.S.; GIBERTONI, T.B. 2018. Fungal perspective on Neotropical biogeography: poroid fungi (Agaricomycetes: Hymenochaetales and Polyporales) and the Brazilian moist forests. **Fungal Ecology**, v.36, p.1-7. <https://doi.org/10.1016/j.funeco.2018.06.004>

LING, L.L.; SCHNEIDER, T.; PEOPLES, A.J.; SPOERING, A.L.; ENGELS, I., CONLON, B.P., MUELLER, A.; SCHÄBERLE, T.F.; HUGHES, D.E.; EPSTEIN, S.; JONES, M. 2015. A new antibiotic kills pathogens without detectable resistance. **Nature**, v.517, n.7535, p.455-459.

MORERA, G.; ROBLEDO, G.; FERREIRA-LOPES, V.; URCELAY, C. 2017. South American Fomitiporia (*Hymenochaetaceae*, Basidiomycota) ‘jump on’ exotic living trees revealed by multi-gene phylogenetic analysis. **Phytotaxa**, v.321, n.3, p.277–286. <https://doi.org/10.11646/phytotaxa.321.3.5>

NEI, M.; KUMAR, S. 2000. Molecular Evolution and Phylogenetics. Oxford University Press, New York.

PARK, H. J. Anti-allergic and anti-inflammatory activity of *Phellinus linteus* grown on *Panax ginseng*. **Food Science and Biotechnology**, v. 26, n. 2, p. 467–472, 2017.

PARK, H. J.; HAN, E. SU; PARK, D. K. The ethyl acetate extract of PGP (*Phellinus linteus* grown on *Panax ginseng*) suppresses B16F10 melanoma cell proliferation through inducing cellular differentiation and apoptosis. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 132, n. 1, p. 115–121, 2010.

RANADIVE, K.R.; BELSARE, M.H.; DEOKULE, S.S.; JAGTAP, N.V.; JADHAV, H.K.; JITENDRA G. VAIDYA, J.G. 2013. Glimpses of antimicrobial activity of fungi from World. **Journal on New Biological Reports**, v.2, n.2, p.142-162.

SILVA, F.S; SÁ, M.S.; COSTA, J.F.O.; PINTO, F.P.; LIMA, M.S.; LUCCHESI, A.M.; GÓES-NETO, A.; ZALIS, M.G.; RIBEIRO-DOS-SANTOS, R.; & MILENA B. P. SOARES, M.P.B. 2009.

*In vitro* pharmacological screening of macrofungi extracts from the Brazilian northeastern region, *Pharmaceutical Biology*, v 47, n 5, p 384-389. <https://doi.org/10.1080/13880200902755226>

SMOLSKAITE, L.; TALOU, T.; VENSKUTONIS, P.R. 2015. Comprehensive Evaluation of Antioxidant and Antimicrobial Properties of Different Mushroom Species. *LWT - Food Science and Technology*, v.60, n.1, p.462–471. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.08.007>

SOUZA, A. Q. L. et al. Atividade antimicrobiana de fungos endofíticos isolados de plantas tóxicas da amazônia: *Palicourea longiflora* (aubl.) rich e *Strychnos cogens* Bentham. *Acta Amazonica*, v. 34, n. 2, p. 185–195, 2004

STADEN, R.; BEAL, K. F.; BONFIELD, J. K. The Staden package. *Methods Mol Biol.*, v. 132, p. 115–30, 1998.

TEIXEIRA, J. P.; SILVA, N.; FONSECA, L.M.; COSTA, G.M. 2015. Uso de PCR Duplex para detecção dos genes *femA* e *mecA* e determinação da concentração inibitória mínima (CIM) em *Staphylococcus aureus* isolados de leite cru. *Rev Inst Adolfo Lutz.* ; v 73, n 3, p 272-279.

THAMMAVONG, S.; PHADUNGKIT, M.; LAOVACHIRASUWAN, P.; NAKSUWANKU, K.; SAENTAWEESEK, W.; SILSIRIVANIT, A.; WONGKHAM, S. 2021. Antioxidant and Cytotoxic Activity of *Phellinus* Mushrooms from Northeast Thailand. *Research Journal of Pharmacognosy (RJP)*, v.8, n.1, p.91-99. <https://doi.org/10.22127/rjp.2020.251089.1632>

THANHA, N. T.; TUANB, N.N.; KUOC, P.C.; DUNGD, D.M.; PHUONGE, D.L.; GIANGF, D.T.T.; WUC, T. S.; THANG, T.D. 2017. Chemical constituents from the fruiting bodies of *Phellinus igniarius*. *Natural Product research*, <https://doi.org/10.1080/14786419.2017.1413572>

WASSER, S. P. 2017. Medicinal Mushrooms in Human Clinical Studies. Part I. Anticancer, Oncoimmunological, and Immunomodulatory Activities: A Review. *International Journal of Medicin Mushrooms*, v.19 n.4, p.279–317. <https://doi.org/10.1615/IntJMedMushrooms.v19.i4.10>

WU, L.; HAN, T.; LI, W.; JIA, M.; XUE, L.; RAHMAN, K.; QIN, L. 2013. Geographic and Tissue Influences on Endophytic Fungal Communities of *Taxus chinensis* var. *mairei* in China. *Current Microbiology*, v.66, p.40–48. <https://doi.org/10.1007/s00284-012-0235-z>

ZOU, C.; ZHANGA, Y.Y.; BAIA, M.; HUANGA, X.X.; WANGA, X.B.; SONGA, S.J. 2019. Aromatic compounds from the sclerotia of *Inonotus obliquus*. **Natural Product Research**. <https://doi.org/10.1080/14786419.2019.1677656>

## 9. CONCLUSÕES

Com base em coletas realizadas em quatro áreas de Floresta Amazônica no Norte do Brasil com posteriores análises microbiológicas dos espécimes conclui-se que:

1. As áreas de estudos abrigam alta diversidade de espécies de fungos hymenochaetoides tornando essas áreas importantes para a conservação da diversidade de fungos da família *Hymenochaetaceae* e análise microbiológicas de cultura de *P. crystallis*.
2. As coletas foram relevantes para a ampliação do conhecimento sobre a diversidade de fungos da família *Hymenochaetaceae* nos estados do Amazonas e Roraima e, conseqüentemente, na região norte do Brasil. Com a adição de 67 registros, duas novas espécies para a ciência, além de novas ocorrências registradas para os demais estados da região Norte, para a Amazônia brasileira e para o Brasil.
3. *P. crystallis* foi bem delimitada por dados morfológicos, a qual foi bem sustentada pela análise filogenética a partir de dados moleculares, tornando-se assim, importante a análise de regiões do rDNA, em complemento aos métodos tradicionais.
4. Os extratos do caldo de cultivo e do micélio de *P. crystallis* apresentaram potencial bacteriostático para a bactéria *E. feacalis* e fungistático para os fungos *C. albicans* e *C. tropicalis*. Também, esses mesmos extratos apresentaram baixa atividade antiplasmódica quando comparado ao controle (quinina), assim como os resultados obtidos pelo ensaio o MTT indica ausência de citotoxicidade dos extratos testados.
5. As análises microbiológicas mostraram a dificuldade de se obter culturas puras das dos espécimes analisados. Das 42 espécies analisadas apenas duas culturas puras foram obtidas, destas apenas uma apresentou resultados positivos contra dois patógenos e em testes plasmodiais.

## 10. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALEXOPOULOS, C. J.; MIMS, C. W.; BLACKWELL, M. 1996. **Introductory Mycology**. 4th edn. **John Wiley & Sons**, Inc. 869 p.

ASHKENAZY, H.; ABADI, S.; MARTZ, E; CHAY, O.; ITAY MAYROSE, I. ConSurf 2016: an improved methodology to estimate and visualize evolutionary conservation in macromolecules. **Nucleic Acids Research**, 44:344–350, 2016.

AWAD, W. A. et al. Decontamination and detoxification strategies for the *Fusarium* mycotoxin 2 deoxynivalenol in animal feed and the effectiveness of microbial biodegradation – a review. **Food Additives and Contaminants**, 2013.

BALDWIN, B. G. 2004. Phylogenetic utility of the internal transcribed spacers of nuclear ribosomal DNA in plants: An example from the Mol. Phylogenet. Evol.

BALTAZAR, J. M. The genus *Coltricia* in Brazil: new records and two new species. v. 102, n. 6, p. 1253–1262, 2010.

BALTAZAR, J. M.; GIBERTONI, T. B. A checklist of the aphylloroid fungi (Basidiomycota) recorded from the Brazilian Atlantic Forest. **Mycotaxon** 109: 439–442.

BENEDICT, R. G.; BRADY, L. R. Antimicrobial activity of mushroom metabolites. **J Pharmacol Sci**, 61: 1820–1822, 1972.

BERKELEY, M. J. Notices of some brazilian fungi (being a sequel to the contributions towards a Flora of Brazil, by G. Gardner). **Hooker's London Journal of Botany and Kew Garden Miscellany**, 3: 14–18, 1851.

BLACKWELL, M. 2011. The fungi: 1, 2, 3... 5.1 million species? **American Journal of Botany** 98 (3): 426–438.

BLÉNIS, P. V.; CHOW, P. S. Evaluating fungi from wood and canola for their ability to decompose canola stubble. **Canadian Journal of Plant Pathology** 27 (2): 259–267, 2005.

BRAUER, M. J. et al. and David M. Hillis, D.M. Genetic algorithms and parallel processing in maximum-likelihood phylogeny inference. **Molecular Biology and Evolution**, v. 19, n. 10, p. 1717–1726, 2002.



BROWN, W. M.; GEORGE, M.; WILSON, A. C. Rapid evolution of animal mitochondrial DNA. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, v. 76, n. 4, p. 1967–1971, 1979.

BROWN, W. M.; PRAGER, E. M.; WANG, A.; WILSON, A. C. Mitochondrial DNA sequences of primates: Tempo and mode of evolution. *Journal of Molecular Evolution*, v. 18, n. 4, p. 225–239, 1982.

BRUNO, W. J.; SOCCI, N. D.; HALPERN, A. L. Weighted neighbor joining: A likelihood-based approach to distance-based phylogeny reconstruction. *Molecular Biology and Evolution*, v. 17, n. 1, p. 189–197, 2000.

CAMPOS, E. L.; CAVALCANTI, M. A. Q. Primeira Ocorrência De *Phellinus Mangrovicus* (Imaz.) Imaz. Para O Brasil. *Acta botanica. brasílica.*, v. 14, n. 3, p. 263–265, 2000.

CAMPOS, E. L. et al. Basidiomycetes de Manguezais da APA de Algodual-Maiandeuá, Pará, Brasil. *Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi, Série Ciências Naturais*, v. 1, n. 1, p. 141–146, 2005.

CAMPOS-SANTANA, M.; ROBLEDO, G.; DECOCK, C.; SILVEIRA, R.M.B. 2015. Diversity of the Poroid Hymenochaetaceae (Basidiomycota) from the Atlantic Forest and Pampa in Southern Brazil. *Cryptogamie, Mycologie*, 36(1):43–78.

CAVENDER C. L. et al. Fungal Barcoding Consortium Nuclear ribosomal internal transcribed spacer (ITS) region as a universal DNA barcode marker for Fungi. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 109 (16): 6241–6246, 2012.

CAVENDER-BARES, J. et al. The merging of community ecology and phylogenetic biology. *Ecol Lett* 12:693–715, 2009.

CHANG, Z. Q.; Oh, B. C. ; Rhee, M. H.; Kim, J. C.; LEE, S.P.; PARK, S.C. 2007. Polysaccharides isolated from *Phellinus baumii* stimulate murine splenocyte proliferation and inhibit the lipopolysaccharide-induced nitric oxide production in RAW264.7 murine macrophages. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, v. 23, n. 5, p. 723–727, 2007.

CHEPKIRUI, C. et al. An unprecedented spiro [furan-2,1'-indene]-3-one derivative and other nematicidal and antimicrobial metabolites from *Sanghuangporus* sp. (Hymenochaetaceae, Basidiomycota) collected in Kenya. *Phytochemistry Letters*, v. 25, p. 141–146, 2018.

CHHABRA, M.; MISHRA, S.; SREEKRISHNAN, T. R. Mediator-assisted Decolorization and Detoxification of Textile Dyes/Dye Mixture by *Cyathus bulleri* laccase. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, 151: 587–598, 2008.

CUI, Y; KIMA, D.S.K; PARK, K. C. Antioxidant effect of *Inonotus obliquus*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 96, 79–85, 2005.

CURVO, R. Breve Historico da Micologia e Fungos Referidos para Mato Grosso - Brasil. **Revista Proficientia**, v. 3, n. 2, p. 15–21, 2006.

DAI, Y.C. 2010. Hymenochaetaceae (Basidiomycota) in China. **Fungal Divers**, 45:131–343.

DONK, M. A. A conspectus of the families of Aphyllophorales. **Persoonia**, 3:199–324, 1964.

DONK, M. A. 1948. Notes on Malesian fungi. Bull. Bot. Gard. **Buitenz.**, III. 17: 473–482, 1948.

DRECHSLER-SANTOS, E. R. et al. A new neotropical genus in the Hymenochaetaceae (Basidiomycota, Hymenochaetales). **Phytotaxa**, v. 261, n. May, p. 218–239, 2016.

EFFERTH, T.; LI, P. C.; KONKIMALLA, V. S.; KAINA, B. From traditional Chinese medicine to rational cancer therapy. **Send to Trends Mol Med.**, 13(8):353-61, 2007.

EL-FALLAL, A. & MOUSSA, Z. Prospects for Biocontrol of Brown Rot Disease of Potato in vitro and under Greenhouse conditions. **Plant Pathology Journal**, 7 (1): 54-64, 2008.

ESTEVE-ZARZOSO, B. et al. Identification of yeasts by RFLP analysis of the 5.8S rRNA gene and the two ribosomal internal transcribed spacers. **International Journal of Systematic Bacteriology**, v. 49, n. 1, p. 329–337, 1999.

FARIA, L. C. B. Existências de Códigos Corretores de Erros e Protocolos de Comunicação em Sequências. **Universidade Estadual de Campinas**, 2011.

FIDALGO, M. E. P. K. Contribution to the fungi of Mato Grosso, Brazil. **Rickia**, 3: 171-219, 1968.

FIDALGO, O.; FIDALGO, M.E.P.K. 1967. Dicionário Micológico. **Rickia**, 2: 1-232, 1967.

FISCHER, M.; BINDER, M. Species recognition, geographic distribution and host-pathogen relationships: A case study in a group of lignicolous basidiomycetes, *Phellinus* s.l. **Mycologia**, v. 96, n. 4, p. 799–811, 2004.

FLOT, J. F. Species delimitation's coming of age. **Syst. Biol.**, 64:897–899, 2015.

GADD, G. M.; WATKINSON, S; DYER, P. *Fungi in the Environment*. Cambridge, New York, Melbourne, Madrid, Cape Town, Singapore, São Paulo, 2007.

GAUT, B. S.; LEWIS, P. O. Success of maximum likelihood phylogeny inference in the four-taxon case. **Molecular Biology and Evolution**, v. 12, n. 1, p. 152–162, 1995.

GIAMARELLOS-BOURBOULIS, J.; et al. Improving outcomes of severe infections by multidrug-resistant pathogens with polyclonal IgM-enriched immunoglobulins. **Clinical Microbiology and Infection**, 22 (6): 499-506, 2006.

GILBERTONI, T. B. et al. Poroid fungi (Agaricomycetes, Basidiomycota) in the National Caxiuanã Forest. In: Lisboa, P. L. (Org.). *Caxiuanã: fungos e líquens*. Belém: Museu Paraense Emílio Goeldi, 2012.

GILBERTSON, R. L.; RYVARDEN, L. 1986. *North American Polypores*. Vol. 1. Oslo: **Fungiflora**, 433p.

GOMES-SILVA, A. C.; RYVARDEN, L. Two new species of *Phellinus* s.l. from the Brazilian Amazonia. **Phytotaxa**, n. 67, 2012.

GOMES-SILVA, A. C.; RYVARDEN, L.; GIBERTONI, T. B. New and interesting species of *Hymenochaetaceae* from the Brazilian Amazonia. **Mycological progress**, p. 273–279, 2009.

GOMES-SILVA, A. C.; GIBERTONI, B. T. Checklist of the Aphylllophorales fungi (Agaricomycetes) of the Brazilian Amazon. **Mycotaxon** 108: 319–322, 2009.

GOMES-SILVA, A. C.; GIBERTONI, B. T. Revisão do Herbário URM: Novas ocorrências de Aphylllophorales para a Amazônia brasileira. **Revista Brasileira de Botânica**, 32 (3): 587–596, 2009.

GOMES-SILVA, A. C.; RYVARDEN, L.; GIBERTONI, B. T. New and interesting species of *Hymenochaetaceae* from the Brazilian Amazonia. **Mycological Progress**, 8: 273–279, 2009.

GUIMARÃES, D. O.; MOMESO, L. S.; PUPO, M. T. Antibiotico; importância terapêutica para a descoberta do desenvolvimento de novas agentes. **Química nova**, p.667-679, 2010.

HAM, S. S. et al. Antimutagenic effects of subfractions of Chaga mushroom (*Inonotus obliquus*) extract. **Mutation Research - Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, v. 672, n. 1, p. 55–59, 2009.

HAN, J. et al. Species identity of *Phellinus linteus* (sanghuang) extensively used as a medicinal mushroom in Korea. v. 54, n. 4, p. 290–295, 2016.

HAWKSWORTH, D. L. The fungal dimension of biodiversity: magnitude, significance, and conservation. **Mycological Research**, 95: 641–655, 1991.

HAWKSWORTH, D. L. The magnitude of fungal diversity: the 1.5 million species estimate revisited. **Mycological Research**, 105:1422–1432, 2001.

HAWKSWORTH, D. L. Fungal diversity and its implications for genetic resource collections. **Studies in Mycology**, 50: 9–18, 2004.

HAWKSWORTH, D. L.; LÜCKING, R. Fungal Diversity revisited: 2.2 to 3.8 Million Species. **Microbiology spectrum**, 5 (4): 1–17, 2017.

HIBBETT, D. S. et al. A higher-level phylogenetic classification of the Fungi. **Mycological Research**, 111 (5): 509–547, 2007.

HWANG, H. J.; SANG W. K.; JONG W. Y. Modern Biotechnology of *Phellinus baumii*. **Food Technol. Biotechnol.**, 45 (3) 306–318, 2007.

IKEKAWA, T. Antitumor action of some basidiomycetes, especially *Phellinus linteus*. **Jpn. J. Cancer Res.** (Gann), 59 (2): 155–157, 1968.

JAMES, T. Y.; KAUFF F.; SCHOCH C. L. Reconstructing the early evolution of fungi using a six-gene phylogeny. **Nature**, 443:818–822, 2006.

JESUS, M. A. Contribution to the knowledge of wood-rotting fungi in Brazil. II. Check-list of fungi from Maracá Island, Roraima State. **Mycotaxon**, 57: 323–328, 1996.

JESUS, M. A. 1995. Contribution to the Knowledge of wood-rotting fungi in Brazil. I. Ocorrence and distribution of fungi on different substrates from the Manaus region, Amazonas state. Paper prepared for the 26th Annual Meeting Helsingør. **Denmark**, p. 1–21, 1995

JÚNIOR, A.; DA S. M., GIBERTONI T. B.; SOTÃO H. M. P. Espécies de Ganoderma P . Karst (Ganodermataceae) e Phellinus Quél . (*Hymenochaetaceae*) na Material e métodos Resultados e discussão. **Acta Botanica Brasílica**, 25 (3): 531–533, 2011.

KARWEHL, S.; STADLER, M. Exploitation of Fungal Biodiversity for Discovery of Novel Antibiotics. **Curr Top Microbiol Immunol**, 398: 303–338, 2016.

KIRK, P. M. et al. Dictionary of the Fungi. EUA: **Cabi Publishing**, 2008.

KIRSCH, L. S.; MACEDO, A. J. P.; TEIXEIRA, M. F. S. Production of mycelial biomass by the Amazonian edible mushroom *Pleurotus albidus*. **Brazilian Journal of Microbiology**, 47 (3): 658–664, 2016.

KIRSCH, L. S. et al. The influence of different submerged cultivation conditions on mycelial biomass and protease production by *Lentinus citrinus* Walley et Rammeloo DPUA 1535 (Agaricomycetidae). **Int J Med Mushrooms**, 13: 85–192, 2011.

LARSSON, K. H.; LARSSON, E.; KÖLJALG, U. High phylogenetic diversity among corticioid Homobasidiomycetes. **Mycological research**, 108 (9): 983–1002, 2005.

LARSSON, K. H. et al. 2006. Hymenochaetales: a molecular phylogeny for the hymenochaetoid clade. **Mycologia**, 98 (6): 926–936, 2006.

LEE, I. K. et al. New antioxidant polyphenols from the medicinal mushroom *Inonotus obliquus*. **Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters**, 17 (24): 6678–6681, 2007.

LI, M. et al. An information-based sequence distance and its application to whole mitochondrial genome phylogeny. **Bioinformatics**, 17 (2): 149–154, 2001.

LIU, B. The Gasteromycetes of China. Beihefte zur **Nova Hedwigia**, 74: 1–235, 1984.

MAHERALI, H.; KLIRONOMOS J. N. Influence of phylogeny on fungal community assembly and ecosystem functioning. **Science**, 316: 1746–1748, 2007.

MÁRCIA, B. A.; LÁZZARI, F. A. Monitoramento De Fungos Em Milho Em Grão, Grits E Fubá. **Food Science and Technology** (Campinas), 18: 363–367, 1998.

MARTINS-JÚNIOR, A. C.; GIBERTONI B. T.; SOTÃO H. M. P. Espécies de *Ganoderma* P. Karst (Ganodermataceae) e *Phellinus* Quéél. (Hymenochateaceae) na Estação Científica Ferreira Penna, Pará, Brasil. **Acta Botânica Brasileira**, 25 (3): 531–533, 2011.

MEDEIROS, R. G.; HANADA, R.; FILHO, E. X. F. Production of xylan-degrading enzymes from Amazon forest fungal species. **International Biodeterioration & Biodegradation**, 52: 97–100, 2003.

MOTA R. A.; SILVA K. P. C.; FREITAS M. F. L.; PORTO W. J. N.; SILVA L. B. G. Utilização indiscriminada de antimicrobianos e sua contribuição a multirresistência bacteriana. **Braz. J. vet Resanim Sci**, 42 (6): 465–470, 2005.

NGUEFACK, J. et al. Evaluation of five essential oils from aromatic plants of Cameroon for controlling food spoilage and mycotoxin producing fungi. **International Journal of Food Microbiology**, 94 (3): 329–334, 2004.

NIEMELÄ, J. K. et al. The search for common anthropogenic impacts on biodiversity global network. **Journal of Insect Conservation**, 4: 3–9, 2000.

NILSSON R. H., et al. Intraspecific ITS Variability in the Kingdom Fungi as Expressed in the International Sequence Databases and Its Implications for Molecular Species Identification. **Evol. Bioinform. Online**, 4: 193–201, 2008.

OBERWINKLER F. Das neue System der Basidiomyceten. In: FREY, W.; HURKA, H.; OBERWINKLER, F. (Eds.) *Beiträge zur Biologie der niederen Pflanzen*. Stuttgart. New York: Gustav Fischer Verlag, p 59–104, 1977.

OSTOSKY, E. A. Métodos para avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da concentração mínima inibitória (CMI) de plantas medicinais. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, 18 (2): 301–307, 2008.

PADIAL, J. M. et al. The integrative future of taxonomy. **Frontiers in Zoology**, 7 (16): 1-14, 2010.

PANTE, E.; SCHOELINCK. C.; PULLANDRE. N. From integrative taxonomy to species description: One step beyond. **Syst. Biol.**, 64: 152–160, 2014.

PARK, H. J. Anti-allergic and anti-inflammatory activity of *Phellinus linteus* grown on *Panax ginseng*. **Food Science and Biotechnology**, 26 (2): 467–472, 2017.

PARK, H. J.; HAN, E.; S. U.; PARK, D. K. The ethyl acetate extract of PGP (*Phellinus linteus* grown on *Panax ginseng*) suppresses B16F10 melanoma cell proliferation through inducing cellular differentiation and apoptosis. **Journal of Ethnopharmacology**, 132 (1): 115–121, 2010.

PARK, Y. M. et al. In vivo and in vitro anti-inflammatory and anti-nociceptive effects of the methanol extract of *Inonotus obliquus*. **Journal of Ethnopharmacology**, 101 (1–3): 120–128, 2005.

PATOUILLARD, N. Essai taxonomique sur les familles et les genres des hyme'nomycetes. **Lons-le-Saunier**, France, 1990.

PEREIRA, M. M. G.; CARVALHO, E. P. P. G. Crescimento e Produçao de Aflatoxinas por *Aspergillus flavus* e *Aspergillus parasiticus*. **Boletim do Centro Pesquisa Processamento de Alimentos** 20: 141–156, 2002.

PERSO, D. 2015. Plant-associated fungal communities in the light of meta'omics. **Fungal Diversity** 75: 1–25, 2015.

PIRES, R. M.; GUGLIOTA, A. M. Poroid *Hymenochaetaceae* (Basidiomycota) from Parque Estadual da Serra do Mar, Nucleo Santa Virgínia, São Paulo, Brazil. **Rodriguésia** 67 (3): 667-676, 2016.

ROBLEDO, G.; URCELAY, C. Hongos de la madera de árboles nativos del centro de Argentina. 1ª Ed. Cordoba: Univ. Nacional de Córdoba, 2009.

ROBLEDO, K. B. The fifth kingdom. 2ª ed. Newburyport: Focus Information Group, Inc., , 2000

ROSA, L. H.; MACHADO, K. M. G.; JACOB, C. C.; CAPELARI, M.; ROSA, C. A.; ZANI, C. L. Screening of Brazilian Basidiomycetes for antimicrobial activity. *Mem Inst. Oswaldo Cruz* 98 (7): 967-974, 2003.

ROUSK, J. et al. Soil bacterial and fungal communities across a pH gradient in an arable soil. *ISME J*, 4: 1340–1351, 2010.

RYVARDEN, L. Genera of Polypores: nomenclature and taxonomy. **Synopsis Fungi**, 1991, 363 p.

RYVARDEN, L. Neotropical polypores 19: Introduction, Ganodermataceae & *Hymenochaetaceae*. **Synopsis Fungorum** 19: 229, 2004.

RYVARDEN, L.; JOAHNSEN I. A preliminary polypore flora of East Africa. **Fungiflora**, Oslo, 1980, 636 p.

SHAH, A. A.; HASAN, F.; HAMEED, A.; AHMED, S. Biological degradation of plastics: A comprehensive review. **Biotechnology Advances**, 26 (3): 246–265, 2008.

SILVA, J. C.; ORMEZINDA, C. C.; FERNANDES, O. C. C.; MARTINS, M. S.; JUNIOR, A. C. R.; TEIXEIRA, M. F. S. Atividade antimicrobiana de espécies de *Penicillium* mantidas sob duas condições de preservação. *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología*, 30: 48–54, 2010.

SIQUEIRA, J. O.; FRANCO, A. A. Biotecnologia do Solo – Fundamentos e perspectivas. **Brasília: Ministério da Educação e Cultura**, 1988, 235 p.

SOTÃO, H. M. P.; BONONI, V. L. R.; FIGUEIREDO, T. S. Basidiomycetes de manguezais da Ilha de Maracá, Amapá, Brasil. *Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi*, série botânica, 7 (1): 109–114.

SOTÃO, H. M. P. et al. . Basidiomycetes macroscópicos de manguezais de Bragança, Pará, Brasil. *Hoehnea*, 29 (3): 215–224, 2002.

SOTÃO, H. M. P. et al. Fungos macroscópicos: Basidiomycetes. In: FERNANDES, M. E. B. (org.). Os manguezais da costa norte brasileira. Maranhão: **Fundação Rio Bacanga**, 2003, 142 p.

SOTÃO, H. M. P.; FIGUEREDO T. S. Utilização do fungo *Pycnoporus sanguineus* (L.: Fr.) Murr. Na cerâmica do Muruanum, Amapá. *Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi*, série botânica, 12 (1): 15-20, 1996.

SOTÃO, H. M. P. et al. Fungos poliporóides. In: Lisboa, P. L. B. (Org.). Caxiuanã, populações tradicionais, meio físico e diversidade biológica. Belém: **Museu Paraense Emílio Goeldi**, 2002, p. 433–444.

SOTÃO, H. M. P.; HENNEN, J. F.; GUGLIOTTA, A. M.; MELO, O. A.; CAMPOS, E. L. Os fungos – Basidiomycotina. In: Lisboa, P. L. B. (Org.). Caxiuanã, populações tradicionais, meio físico e diversidade biológica. Belém: **Museu Paraense Emílio Goeldi**, 213–219, 1997.

SPATAFORA, J. W. et al. 2017. The fungal tree of life: from molecular systematics to genome-scale phylogenies. *Microbiol Spectr*, 5:

SPATAFORA, J. W. et al. A phylum-level phylogenetic classification of zygomycete fungi based on genome-scale data. *Mycologia*, 108:1028–1046, 2016.

SUN, J. E. et al. Antihyperglycemic and antilipidperoxidative effects of dry matter of culture broth of *Inonotus obliquus* in submerged culture on normal and alloxan-diabetes mice. *Journal of Ethnopharmacology*, 118 (1): 7–13, 2008.



TAKAHASHI, K.; NEI, M. Efficiencies of fast algorithms of phylogenetic inference under the criteria of maximum parsimony, minimum evolution, and maximum likelihood when a large number of sequences are used. **Molecular Biology and Evolution**, 17 (8): 1251–1258, 2000.

TAYLOR, J. W. et al. Phylogenetic species recognition and species concepts in fungi. **Fungal Genetics and Biology** 31 (1): 21–32, 2000.

TEDERSOO, B. M. et al. Millions of reads, thousands of taxa: microbial community structure and associations analyzed via marker genes. **FEMS Microbiol Rev**, 40:686–700, 2016.

TEDERSOO, L.; et al. High-level classification of the Fungi and a tool for evolutionary ecological analyses. **Fungal Diversity** 90: 135–159, 2018.

TEDERSOO, L.; NILSSON, R. H. Molecular identification of fungi. In: Martin F (ed) Molecular mycorrhizal symbiosis. Wiley: **Hoboken**, p. 301–322, 2016.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. **Microbiologia**. 12<sup>a</sup>. ed. Porto Alegre: Artmed., 2017.

WAGNER, T.; FISCHER, M. Natural groups and a revised system for the European poroid Hymenochaetales (Basidiomycota) supported by nLSU rDNA sequence data. **Mycological Research**, 105 (7): 773–782, 2001.

WAGNER, T.; FISCHER, M. Classification and phylogenetic relationships of Hymenochaete and allied genera of the Hymenochaetales, inferred from rDNA sequence data and nuclear behaviour of vegetative mycelium. **Mycological Progress**, 1 (1): 93–104, 2002.

WAGNER, T.; FISCHER, M. Proceedings towards a natural classification of the worldwide taxa *Phellinus* s. l. and *Inonotus* s. l., and phylogenetic relationships of allied genera. **Mycologia**, 94 (6): 998–1016, 2017.

WANNMACHER, L. 2004. Uso indiscriminado de antibióticos e resistência microbiana: uma guerra perdida. Uso racional de medicamentos: temas selecionados. Brasília: Organização Pan-Americana da Saúde/Organização Mundial da Saúde.

WICKLOW, D. T.; CARROLL, C. G. . The Fungal Community, its organization and role in the ecosystem. New York, **Marcel Dekker**, 1981, 885 p.

WIJAYAWARDENE, N. N. et al. Outline of Ascomycota. **Fungal Diversity**, 88:167–263, 2018.

WU, F. et al. *Tropicoporus boehmeriae* sp. nov. (*Hymenochaetales*, Basidiomycota) from Thailand, a new member of the *Inonotus linteus* complex. **Phytotaxa**, 231 (1): p. 11646, 2015.

YAMAÇ, M.; BILGILI, F.. Antimicrobial activities of Fruitbodies and/or Mycelial Cultures of some mushroom isolates. **Pharmaceutical Biology**, 44 (9): 660–667, 2006.

YOKOMIZO, N. K. S.; BONONI, V. L. R. Cogumelos comestíveis: perspectivas de introdução de outras espécies no mercado brasileiro. **Anais I Encontro Nacional de Cogumelos Comestíveis**, Moji das Cruzes, São Paulo, p. 43–51, 1985.

ZHAO, R. L. et al. A six-gene phylogenetic overview of Basidiomycota and allied phyla with estimated divergence times of higher taxa and a phyloproteomics perspective. **Fungal Diversity**, 84:43–74, 2017.

ZHENG, W. F. et al. Phenolic compounds from *Inonotus obliquus* and their immune-stimulating effects. *Mycosystema*, 27(4): 574–581, 2008.

ZHOU, L. et al. Global diversity and taxonomy of the *Inonotus linteus* complex *Tropicoporus excentrodendri* and *T. guanacastensis* gen. et spp and 17 new combinations. **Fungal Diversity**, 77: 335-347, 2015.

ZHOU, L.W.; VLASÁK, J. DAI, Y. C. Taxonomy and phylogeny of *Phellinidium* (*Hymenochaetales*, Basidiomycota): a redefinition and the segregation of *Coniferiporia* gen. nov. for forest pathogens. **Fungal Biology**, 120(8): 988-1001, 2016.  
<https://doi.org/10.1016/j.funbio.2016.04.008>

LONG, X; XUE, H; WONG, JTF. Descent of Bacteria and Eukarya From an Archaeal Root of Life. **Evolutionary Bioinformatics** 16: 1–11, 2020

HE, MA; ZHAO, RL; HYDE, et al. Notes, outline and divergence times of Basidiomycota. **Fungal Diversity**, 99:105–367, 2019. <https://doi.org/10.1007/s13225-019-00435-4>

## 11. APÊNDICE

Artigo publicado:

Maria Aparecida da Silva, Maria Aparecida de Jesus, Rafaela Saraiva Peres, Ceci Sales-Campos.  
**Notes on *Fomitiporia* Murrill in Amazon region: a list of species and new records.** Check List  
17(2): 323-331. <https://doi.org/10.15560/17.2.323>