



UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS - UFAM
PROGRAMA MULTI-INSTITUCIONAL DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
BIOTECNOLOGIA

KAREN KELLY CARVALHO DE OLIVEIRA

**ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE BASIDIOMICETOS OCORRENTES NA
AMAZÔNIA**

MANAUS

2014

KAREN KELLY CARVALHO DE OLIVEIRA

**ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE BASIDIOMICETOS OCORRENTES NA
AMAZÔNIA**

Dissertação apresentada ao Programa Multi-Institucional de Pós-Graduação em Biotecnologia da Universidade Federal do Amazonas, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Biotecnologia, área de concentração: Saúde

Orientador: Dr. Luiz Antonio de Oliveira
Co-orientadora: Dra. Ormezinda Celeste
Cristo Fernandes

MANAUS

2014

Ficha Catalográfica

(Catalogação realizada pela Biblioteca Central da UFAM)

O48a

Oliveira, Karen Kelly Carvalho de.

Atividade antimicrobiana de basidiomicetos ocorrentes na Amazônia /
Karen Kelly Carvalho de Oliveira. - 2014.

67 f. : il. color..

Dissertação (mestrado em Biotecnologia) — Universidade Federal do Amazonas.

Orientador: Prof. Dr. Luiz Antonio de Oliveira.

Coorientadora: Prof^a. Dr^a Ormezinda Celeste Cristo Fernandes

1. Diagnóstico microbiológico 2. Cogumelos 3. Fungos – Amazônia I.
Oliveira, Luiz Antonio , orientador II. Universidade Federal do Amazonas III.
Título

CDU (1997): 615.282 (811) (043.3)

Agradecimentos

À Deus, pela força oferecida nos momentos de dificuldades e por colocar as pessoas certas em meu caminho.

Aos meus pais, pela educação e ensinamentos concedidos, além do apoio emocional e financeiro.

Aos familiares, por compreenderem minha ausência e apoiar-me, mesmo que à distância.

À Universidade Federal do Amazonas e ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, pela oportunidade e conhecimentos adquiridos ao longo do curso.

À FAPEAM pela concessão da bolsa de estudo.

Ao Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, por ceder as culturas de basidiomicetos e a estrutura necessária para realização das atividades.

À Fiocruz por ceder os patógenos e a estrutura necessária para os testes antimicrobianos.

Ao CNPq e Fapeam, financiadores do projeto “Obtenção de micro-organismos da Amazônia produtores de metabólitos de importância econômica e ecológica”, pelos recursos financeiros disponibilizados para realização das pesquisas.

Ao meu orientador Dr. Luiz Antonio de Oliveira, pela oportunidade e confiança depositada em mim e no projeto e pelos ensinamentos ao longo destes dois anos. Também agradeço pela estrutura que nos é disponibilizada e por todo o apoio para a execução dos projetos.

À Ormezinda Fernandes, pela atenção e ajuda durante a execução dos experimentos na Fiocruz e por aceitar o convite de co-orientação.

Ao professor Dr. Pedro Queiroz da Universidade Federal do Amazonas, pela amizade e ajuda para extração de DNA e PCR dos isolados, também por orientar-me durante o estágio docente.

À Mirna Myiamoto, pela ajuda e persistência na identificação molecular dos fungos, cuja ajuda foi muito valiosa.

Às amigas biotecnólogas Anne Dantas, Jéssica Souza e Jeane Lima, que são parcialmente responsáveis pelo meu interesse na pesquisa. Agradeço o incentivo que recebi todos os dias em que convivemos, pelos conselhos e por me mostrarem o caminho certo a seguir.

A todos os amigos do laboratório, Luciana Brito, Edilaine D'Ávila, Fabiana Oliveira, Cassiane Minelli, Tatiana Paulain, Ellen Andion e, principalmente, Nadionara Menezes pelas conversas e momentos de descontração, ajuda e amizade.

À Josy C. da Silva, primeiramente agradeço por você ser tão prestativa e atenciosa com cada aluno que passa pela Fiocruz. Além disso, agradeço por tirar todas as minhas incontáveis dúvidas durante os experimentos e por atender-me sempre que precisei.

Aos membros da Banca da Aula de Qualificação (Dra. Ormezinda Fernandes, Dra. Mayra Kassawara e Dr. Rudi Procópio) e aos membros da Defesa da Dissertação (Dr. Luiz Antonio de Oliveira, Dr. João Vicente Braga de Souza e Dr. Pedro Queiroz Costa Neto) pelas valiosas contribuições.

Muito obrigada!

ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE BASIDIOMICETOS OCORRENTES NA AMAZÔNIA

RESUMO

O aumento da resistência microbiana aos antibióticos disponíveis e o decréscimo contínuo observado no número de novos antimicrobianos aprovados pela *Food and Drug Administration* gera uma constante busca por novos compostos. Para tanto, uma das estratégias a ser seguida consiste na exploração de fontes naturais pouco estudadas, pois frequentemente organismos obtidos de novos ecossistemas estão associados à nova diversidade química. Neste contexto destacam-se os basidiomicetos, que vêm sendo relatados como promissoras fontes de antimicrobianos e, apesar deste potencial e da grande diversidade biológica, as espécies ocorrentes na Amazônia têm sido pouco estudadas. Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar a atividade antimicrobiana de oito basidiomicetos isolados de Manaus e Boa Vista. Os fungos foram cultivados em dois meios líquidos (malte e GLP) e em meio ágar-malte, neste último caso foram mantidos em duas condições de incubação: ausência e presença de luz. Em todos os tratamentos os fungos foram mantidos em temperatura ambiente. Os testes utilizaram os filtrados provenientes do crescimento em meio líquido de sete a 63 dias, além de extratos obtidos com acetato de etila a partir do cultivo em meio sólido (dez dias). Os patógenos testados foram *Escherichia coli* CBAM 001, *Staphylococcus aureus* CBAM 324, *Candida albicans* CFAM 1342, *Aspergillus niger* CFAM 161 e *Penicillium* sp. CFAM 059, através do método de difusão em ágar. Os filtrados com atividade positiva foram submetidos a teste de microdiluição para identificação da concentração inibitória mínima. Foi realizada a identificação molecular através de amplificação e sequenciamento do fragmento do rDNA, com posterior comparação das sequências obtidas com as depositadas no banco de dados do *National Center for Biotechnology Information*. Dos filtrados testados, sete inibiram o crescimento de *C. albicans* CFAM 1342, todos provenientes do cultivo de *Oudemansiella canarii* 1528, tanto em meio malte, como em meio GLP. Em meio malte, este basidiomiceto produziu compostos antifúngicos aos sete e 49 dias de cultivo, enquanto em meio GLP produziu a partir dos 21 dias de cultivo, até o 49º dia. A concentração inibitória mínima foi identificada para o filtrado obtido aos 28 dias de cultivo em meio GLP (2,5 mg/mL) e o filtrado obtido aos 49 dias em meio malte (5 mg/mL). Os extratos obtidos com acetato de etila além de inibir *C. albicans* CFAM 1342, inibiram *Penicillium* sp. CFAM 059, *E. coli* CBAM 001 e *S. aureus* CBAM 324. Esta metodologia apresentou resultados mais satisfatórios, pois além de *Oudemansiella canarii* 1528, outros seis basidiomicetos (*Basidiomycete* 347, *Pleurotus* sp. 474, *Gloeophyllum* sp. 1153, *Trametes* sp. 1232, *Trametes* sp. 1540 e *Earliella scabrosa* 1552) apresentaram atividade antimicrobiana. Deste modo, os resultados obtidos permitiram observar a influência das condições de cultivo para a produção de compostos antimicrobianos, assim como a escolha de solventes, sendo necessários estudos posteriores para determinar a melhor condição para a produção e extração destes compostos.

Palavras-chave: Cogumelos, antibacterianos, antifúngicos, atividade anti-Cândida, compostos bioativos.

ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF BASIDIOMYCETES OCCURRING ON AMAZON

ABSTRACT

The increase in microbial resistance to available antibiotics and the continuous decrease observed in the number of the new antimicrobial agents approved by Food and Drug Administration creates a constant search for new compounds. To do so, one of the strategies to be followed consists in exploring understudied natural sources, as often organisms obtained new ecosystems are associated with new chemical diversity. In this context are the basidiomycetes, which have been reported as promising sources of antimicrobial and, despite this potential and great biological diversity, the species found in the Amazon have been insufficiently studied. The objective of this study was to evaluate the antimicrobial activity of eight basidiomycetes isolated from Manaus and Boa Vista. The fungi were grown in two liquid media (malt and GLP) and malt-agar medium, in the latter case were held in two incubation conditions: absence and presence of light. The fungi were maintained at room temperature in all treatments. The tests used the filtered liquid from the growth medium for seven to 63 days, besides extracts with ethyl acetate from growing on solid media (ten days). The pathogens tested were *Escherichia coli* CBAM 001, *Staphylococcus aureus* CBAM 324, *Candida albicans* CFAM 1342, *Aspergillus niger* CFAM 161 and *Penicillium* sp. CFAM 059, by agar diffusion method. The filtered with positive activity, were submitted to microdilution test for identification of minimum inhibitory concentration. Molecular identification was performed by amplification and sequencing of the rDNA fragment, with subsequent comparison of the sequences obtained with those deposited in the National Center for Biotechnology Information database. Of filtered tested, seven inhibited the growth of *C. albicans* CFAM 1342, all of *Oudemansiella canarii* 1528 cultivation, as medium malt, as in GLP. At medium malt, this basidiomycete produced antifungal compounds at seven and 49 days of cultivation, while in the medium GLP produced from the 21 days of cultivation, until the 49th day. The minimum inhibitory concentration was found for the filtrate obtained after 28 days of GLP cultivation medium (2.5 mg/ml) and the filtrate obtained after 49 days malt medium (5 mg/ml). The extracts obtained with ethyl acetate inhibited *C. albicans* CFAM 1342, *Penicillium* sp. CFAM 059, *E. coli* CBAM 001 and *S. aureus* CBAM 324. This method was found more satisfactory results, as well as *Oudemansiella canarii* 1528, six other basidiomycetes (*Basidiomycete* 347, *Pleurotus* sp. 474, *Gloeophyllum* sp. 1153, *Trametes* sp. 1232, *Trametes* sp. 1540 e *Earliella scabrosa* 1552) showed antimicrobial activity. Thus, the results allow to observe the influence of culture conditions for the production of antimicrobial compounds, as well as choice of solvents, further studies are needed to determine the optimum conditions for production and extraction thereof.

Word-keys: Mushrooms, antibacterial, antifungal, anti-Candida activity, bioactive compounds.

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1- Esquema de formação de grampos de conexão em basidiomicetos	15
Figura 2 - Etapas do ciclo de vida de um basidiomiceto	16
Figura 3 - Medicamentos originados a partir de cogumelos medicinais. A - Krestin (PSK), de <i>Trametes versicolor</i> ; B – Lentinan, de <i>Lentinula edodes</i> ; C - Schizophyllan, de <i>Schizophyllum commune</i> ; D - Befungin, isolado de <i>Inonotus obliquus</i>	17
Figura 4 - Estrutura dos compostos antimicrobianos isolados a partir de basidiomicetos	23
Figura 5 - Esquema de tratamentos no cultivo das linhagens de basidiomicetos	32
Figura 6 - Método de inoculação em microplacas para determinação da Concentração inibitória mínima	35
Figura 7 - Quantificação do DNA genômico dos basidiomicetos em gel de agarose 0,8%. C+: DNA cromossomal. Isolados de 1 a 8: 347, 474, 1153, 1552, 1210, 1232, 1528 e 1540 (36)	36
Figura 8 - Amplificação do fragmento do rDNA dos basidiomicetos. M: marcador de 1Kb Fermentas. Isolados de 1 a 8: 347, 474, 1153, 1552, 1210, 1232, 1528 e 1540. C-: controle negativo	36
Figura 9 - Purificação das amostras com PEG 8000 em gel de agarose 0,8%. M: marcador de 1Kb Fermentas, Isolados de 1 a 8: 347, 474, 1153, 1552, 1210, 1232, 1528 e 1540	36
Figura 10 - Óperon ribossomal fúngico indicando a região de anelamento dos diferentes <i>primers</i> que podem ser utilizados na identificação molecular	38
Figura 11 - Halos de inibição contra <i>C. albicans</i> CFAM 1342 dos filtrados obtidos do cultivo de <i>Oudemansiella canarii</i> 1528. Meio malte: A – sete dias, B – 49 dias; Meio GLP: C - 21 dias; D - 28 dias; E - 35 dias; F - 42 dias; G - 49 dias. H – filtrado sem atividade antifúngica. Controle positivo: disco com itraconazol (5 mg/mL) no centro das placas	39
Figura 12 - Corpos de frutificação de <i>Oudemansiella canarii</i> . A-B: frutificação em placa de Petri, após retiradas de inóculos e exposição à luz; C: foto retirada da internet (http://www.boldsystems.org/index.php/Taxbrowser_Taxonpage?taxon=Oudemansiella%20canarii)	41
Figura 13 - Extratos inibidores de <i>Candida albicans</i> CFAM 1342 obtidos do cultivo de <i>Oudemansiella canarii</i> 1528 em meio sólido, com exposição à luz (A) e sem exposição à luz (B)	45
Figura 14 - Extratos de <i>Pleurotus</i> sp. 474 e <i>Gloeophyllum</i> sp. 1153 com ação antibiótica contra <i>Staphylococcus aureus</i> CBAM 324	46

ÍNDICE DE TABELAS

	Página
Tabela 1 - Espécies de basidiomicetos produtoras de metabólitos antimicrobianos	24
Tabela 2 - Fungos selecionados para a avaliação da atividade antimicrobiana	29
Tabela 3 - Descrição de preenchimento dos poços das microplacas para o teste de microdiluição	35
Tabela 4 - Resultados da busca e comparação das sequências obtidas com as sequências depositadas no banco de dados do <i>National Center for Biotechnology Information</i>	37
Tabela 5 - Atividade antifúngica dos filtrados de <i>Oudemansiella canarii</i> 1528 contra <i>Candida albicans</i> CFAM 1342, após crescimento em diferentes meios de cultivo e períodos de incubação	40
Tabela 6 - Resultado do teste de microdiluição para identificação da concentração inibitória mínima dos filtrados de <i>Oudemansiella canarii</i> 1552 contra <i>Candida albicans</i> CFAM 1342	42
Tabela 7 - Atividade antimicrobiana de extratos do cultivo de basidiomicetos em meio ágar malte	43

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	14
2.1 Fungos	14
2.2 Basidiomicetos	14
2.2.1 Compostos bioativos	17
2.2.1.1 Antitumorais	18
2.2.1.2 Antioxidantes	19
2.2.1.3 Antimicrobianos	20
2.3 Resistência aos antibióticos	26
3 OBJETIVOS	28
3.1 Geral	28
3.2 Específicos	28
4 MATERIAL E MÉTODOS	29
4.1 Material biológico	29
4.1.1 Fungos	29
4.1.2 Micro-organismos patogênicos	29
4.2 Identificação molecular	30
4.2.1 Extração de DNA	30
4.2.2 Amplificação do fragmento do rDNA por Reação de Cadeia da Polimerase (PCR)	30
4.2.3 Purificação da PCR	30
4.2.4 Sequenciamento	31
4.3 Avaliação da atividade antimicrobiana	31
4.3.1 Cultivo dos fungos em meio líquido	31
4.3.2 Obtenção do filtrado	32
4.3.3 Extratos obtidos do cultivo em meio sólido	32
4.3.4 Preparo do inóculo dos patógenos	33
4.3.4.1 Bactérias	33
4.3.4.2 Fungos	33
4.3.5 Teste de difusão em ágar	33
4.4 Concentração Inibitória Mínima (CIM)	34
4.5 Determinação da ação dos filtrados	35
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	36
5.1 Identificação molecular	36

5.2 Atividade antimicrobiana	39
5.2.1 Filtrados	39
5.2.1.1 Concentração inibitória mínima (CIM)	42
5.2.2 Extratos	43
6 CONCLUSÕES	48
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	49
ANEXOS	59

1 INTRODUÇÃO

Os fungos pertencentes ao filo Basidiomycota são economicamente importantes e incluem diferentes tipos, como os causadores das doenças de plantas chamadas ferrugens, carvões (fungos dos carvões), cogumelos, fungos gelatinosos, orelhas-de-pau e os fungos denominados bolas-pafe (LUZ, 2008). Este filo apresenta grande importância na indústria, sendo utilizado na bioconversão de resíduos lignocelulósicos (GONÇALVES et al., 2010; OLIVEIRA et al., 2007), biodegradação de xenobióticos (ACEVEDO et al., 2011), biorremediação de solos (BALLAMINUT et al., 2013), tratamentos de efluentes industriais (GARCIA, 2009), enzimas (SUHARA et al., 2012) e aromas (BOSSE et al., 2013). Além disso, produzem uma ampla gama de produtos naturais com aplicações medicinais, como compostos com atividade antitumoral (KAWANISHI et al., 2010; REN et al., 2012), antioxidante (CHOI et al., 2012), antimicrobianos (MA et al., 2014; RAI et al., 2013), antivirais (RINCÃO et al., 2012), antiparasitários (DUARTE, 2011) e citostáticos (ISRILIDES et al., 2008).

O primeiro trabalho que investigou o potencial dos basidiomicetos como fontes de antibióticos foi realizado por Anchel et al. (1941), onde foram examinados extratos obtidos do corpo de frutificação e do micélio de mais de 2.000 espécies (SANDVEN, 2000). Estudos posteriores levaram ao isolamento e identificação da pleuromutilina, um diterpeno utilizado no tratamento contra infecções por micoplasmas em animais (ROSA et al., 2003). Atualmente, um derivado semi-sintético deste composto, chamado retapamulina, é comercializado sob o nome de Altargo e utilizado no tratamento de curta duração de infecções superficiais da pele em adultos, adolescentes, lactentes e crianças. Estudos feitos em laboratório mostraram que este composto não apresenta resistência cruzada específica com outras classes de antibióticos, isto é, mesmo que a infecção não tenha melhorado com outros antibióticos, pode melhorar com o uso do Altargo (ANVISA, 2013).

O uso contínuo de antibióticos inevitavelmente seleciona micro-organismos resistentes. Em pouco tempo, o aparecimento e a disseminação da resistência aos antimicrobianos entre organismos patogênicos, tornaram ineficientes muitos dos medicamentos disponíveis para o tratamento de doenças infecciosas.

Hoje, a resistência tornou a maioria dos antibióticos originais obsoletos para muitas infecções, determinando um aumento da dependência de drogas sintéticas. No entanto, as bactérias também podem desenvolver resistência a estas drogas, normalmente por meio da aquisição de mutações cromossômicas (CIRZ et al., 2005) ou plasmidiais. Assim, a busca

contínua por novas substâncias antimicrobianas eficazes contra estes micro-organismos é crucial. Para tanto, recursos naturais têm sido explorados nos últimos anos e, entre eles, os basidiomicetos podem ser uma fonte alternativa de novos antimicrobianos (ALVES et al., 2012, 2013).

Dentre as pesquisas desenvolvidas no Brasil recentemente, há o estudo de Bekai (2010) onde os extratos de *Antrodia albida* foram eficazes contra bactérias Gram positivas, como *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* e *Micrococcus* sp. e contra a bactéria Gram negativa *Pseudomonas aeruginosa*; Athayde (2011) analisou a citotoxicidade e atividade antimicrobiana de extratos de *Pycnoporus sanguineus* e concluiu que seus extratos apresentam atividade inibitória contra *Streptococcus mutans* e *S. aureus*, além disso os extratos em questão apresentaram baixa toxicidade. Assim, os basidiomicetos podem ser uma fonte de novos antimicrobianos capazes de inibir micro-organismos que são resistentes aos antibióticos comuns (OYETAYO, 2009).

Estudos desta natureza também têm sido realizados em outros países. Akyuz et al. (2010) testaram extratos obtidos a partir dos corpos de frutificação de espécies de *Pleurotus* spp., *Terfezia boldieri* e *Agaricus bisporus* da Turquia, contra vários patógenos bacterianos e fúngicos e concluíram que todas as linhagens testadas apresentaram atividade antibiótica contra ao menos um patógeno. Em relação à atividade antifúngica, apenas os basidiomicetos *P. eryngii* var. *eryngii* e *P. eryngii* var. *ferulae* inibiram o crescimento de *Candida albicans*, enquanto sete das dez linhagens testadas inibiram *C. glabrata*. Um trabalho semelhante foi desenvolvido por Giri et al. (2012) na Índia, onde extratos metanólicos foram obtidos a partir de 30 tipos de cogumelos e testados contra bactérias e fungos patogênicos. Todas as espécies apresentaram atividade antibiótica e 13 inibiram o crescimento de *C. albicans*. E, assim como estes, vários outros países como República da Macedônia, Nigéria, Sudão, entre outros, investigaram o potencial dos basidiomicetos em inibir ou matar micro-organismos causadores de doenças ao homem, obtendo resultados positivos (NWACHUKWU; UZOETO, 2011; MOGLAD; SAADABI, 2012; NEDELKOSKA et al., 2013).

O Brasil destaca-se por sua grande diversidade fúngica, e, apesar disso, poucos estudos relacionados com a descoberta de novos compostos bioativos a partir de basidiomicetos têm sido relatados, com isso ainda há um grande potencial biotecnológico a ser explorado (BEKAI, 2010). Uma das estratégias a serem adotadas neste tipo de estudo, consiste em submeter os fungos a diferentes condições de cultivo, tendo em vista que uma única cepa pode produzir diferentes metabólitos de acordo com os parâmetros físico-químicos escolhidos. Desta forma, este projeto avaliou a atividade antimicrobiana de oito

basidiomicetos cultivados em diferentes meios e condições de luminosidade, frente a *Escherichia coli*, *S. aureus*, *C. albicans*, *Aspergillus niger* e *Penicillium* sp.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Fungos

Durante muitos anos os fungos foram considerados como vegetais e, somente a partir de 1969, passaram a ser classificados em um reino a parte denominado *Fungi*. Sua diferenciação das plantas se deve a um conjunto de características próprias, tais como: ausência de clorofila e outros pigmentos fotossintéticos, não possuem celulose em sua parede celular (com exceção de alguns fungos aquáticos) e não armazenam amido como substância de reserva (TRABULZI et al., 1999; GUERREIRO, 2003). Seu ciclo reprodutivo inclui formas sexuais e assexuais. Possuem micélio haplóide nas formas inferiores e diplóide nas superiores (SILVEIRA, 1995).

São organismos eucarióticos, podendo apresentar um ou mais núcleos por célula. Eles são heterotróficos e exibem nutrição por absorção, através da produção de enzimas que degradam substratos. Quanto à estrutura celular, podem ser unicelulares, como as leveduras, ou pluricelulares, como os fungos filamentosos, formando hifas e micélio (ALEXOPOULOS et al., 1996; BONONI; GRANDI, 1998).

Em meio de cultivo apresentam três tipos de micélio: o que se desenvolve no interior do substrato, atuando na sustentação e absorção de nutrientes, chamado de micélio vegetativo; o que se projeta na superfície e cresce acima do meio de cultivo, chamado micélio aéreo e quando este se diferencia para sustentar seus órgãos de disseminação, constitui o micélio reprodutivo (MOURA, 2008). Os fungos são frequentemente associados a efeitos prejudiciais. No entanto, a maioria das espécies é benéfica e responsável pela sobrevivência de outros seres vivos, inclusive o homem (ESPOSITO; AZEVEDO, 2004).

2.2 Basidiomicetos

Os basidiomicetos podem ser encontrados nos mais diversos *habitat*, tais como rochas, solos, águas, ambientes considerados abióticos, entre outros, interagindo com diversas espécies e sob as mais variadas condições ambientais (MANOHARACHARY et al., 2005). O cogumelo constitui uma fase temporária no ciclo de vida destes fungos, sendo denominado basidioma ou corpo de frutificação, local onde ocorre a reprodução sexuada, originando os basidiósporos. Após a dispersão dos esporos, os corpos de frutificação acabam apodrecendo ou sendo comidos por insetos, enquanto o organismo em si é formado pelo micélio vegetativo, que coloniza e explora o substrato (GUGLIOTTA; CAPELARI, 1998).

Este grupo de fungos é tipicamente micelial, mas alguns são leveduras ou têm estádios semelhantes aos das leveduras (LUZ, 2008). A maioria das espécies forma uma frutificação macroscópica, com hifas modificadas que originam pseudo-tecidos, os quais se diferem em píleo, estipe, lamelas, anel e volva. Diferem dos demais fungos por produzirem esporos denominados basidiósporos. Existem basicamente dois tipos de basidiósporos: balistósporos, que são liberados ativamente dos basídios e os estatismósporos que são liberados passivamente (ALEXOPOULOS et al., 1996; GUGLIOTTA; CAPELARI, 1998; PUTZKE e PUTZKE, 1998).

Outra característica que distingue o filo Basidiomycota é a presença de grampos de conexão (ansas) que são formados no micélio vegetativo para manter sua condição binucleada. Estas estruturas conectam células vizinhas de uma mesma hifa, formando uma ponte sobre o septo. No centro do septo há um poro chamado dolíporo, cuja margem pode ser inflada ou em forma de barril. Durante a divisão celular, um dos núcleos passa através do dolíporo e o segundo, que não consegue atravessar o septo transversal, passa através do grampo de conexão (Figura 1) (HERRERA; ULLOA, 1990; ALEXOPOULOS et al., 1996; GUGLIOTTA; CAPELARI, 1998; LUZ, 2008).

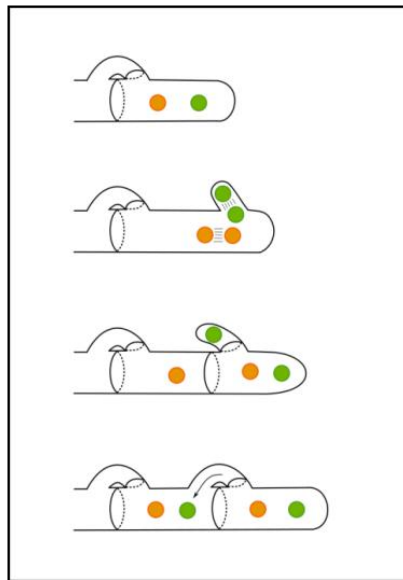


Figura 1 - Esquema de formação de grampos de conexão em basidiomicetos

Fonte: <http://es.wikipedia.org/wiki/Archivo:Clamp_connections_fungi.svg>

Acesso em: 15 junho de 2012

O micélio pode ser primário, secundário ou terciário. O primário caracteriza-se pela germinação dos esporos, formando hifas haplóides. Micélios primários geneticamente compatíveis eventualmente entram em contato e se fundem, ocorrendo a plasmogamia, dando origem ao micélio secundário com dois núcleos separados. Inicia-se então um crescimento

ordenado para formação do sistema reprodutor (corpo de frutificação). Neste estágio, o micélio, já denominado terciário, inicia a formação de basídios, local de formação dos basidiósporos (Figura 2) (ALEXOPOULOS et al., 1996; PUTZKE; PUTZKE, 1998; LUZ, 2008).

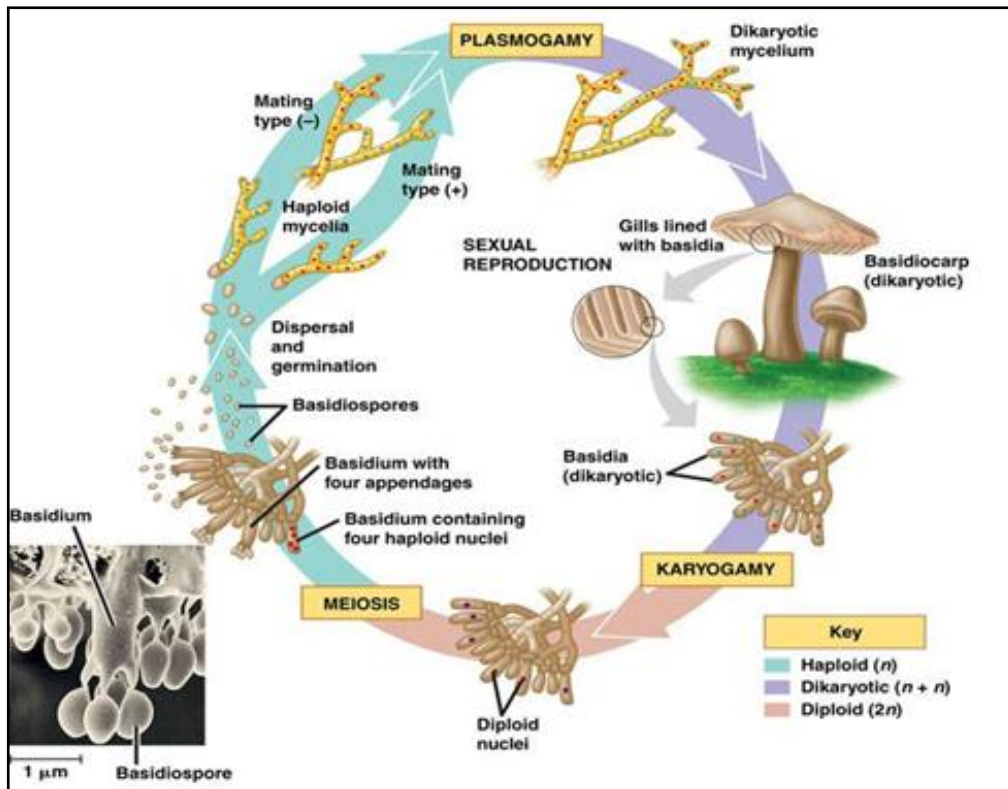


Figura 2 - Etapas do ciclo de vida de um basidiomiceto

Fonte: <<http://www.freezingblue.com/iphone/flashcards/printPreview.cgi?cardsetID=240294>>
Acesso em: 18 de novembro de 2013

Este é um grupo importante de fungos, incluindo espécies prejudiciais e úteis. Várias são altamente destruidoras e causam um prejuízo de vários milhões de dólares na indústria madeireira no mundo. Por outro lado, as espécies que atacam as plantas lenhosas mortas são os principais agentes que decompõem a celulose e lignina e, a produção de biomassa em um ecossistema florestal é, em grande parte, devido à ação desses decompositores, que atuam na liberação de nutrientes para o meio. Os basidiomicetos podem causar dois tipos de podridão: branca - quando degradam lignina, e marrom - quando degradam a celulose e hemicelulose. Pouquíssimos membros causam doenças em seres humanos, com destaque para a espécie *Filobasidiella neoformans*, que é um sério patógeno humano, principalmente em pacientes soropositivos (ALEXOPOULOS et al., 1996; ESPOSITO; AZEVEDO, 2004; LUZ, 2008).

2.1.1 Compostos bioativos

Os basidiomicetos possuem uma enorme diversidade de biomoléculas com propriedades nutricionais e medicinais. Graças a estas propriedades, têm sido reconhecidos como alimentos funcionais e como fonte para o desenvolvimento de medicamentos e nutracêuticos (Figura 3) (ALVES et al., 2012).



Figura 3 – Medicamentos originados a partir de cogumelos medicinais.
 A - Krestin, de *Trametes versicolor*; B – Lentinan, de *Lentinula edodes*; C - Schizopyllan, de *Schizophyllum commune*; D - Befungin, de *Inonotus obliquus*

Fonte: Wasser (2010)

Os cogumelos medicinais têm uma longa história de utilização em terapias orientais tradicionais. Historicamente, frações solúveis em água quente de cogumelos medicinais foram usadas como remédio no Extremo Oriente, onde o conhecimento e a prática do consumo de cogumelos foram principalmente originados (LULL et al., 2005).

Cogumelos como *Ganoderma lucidum*, *Lentinula edodes*, *Inonotus obliquus* e muitos outros foram coletados e utilizados por centenas de anos na Coreia, China, Japão e Leste da Rússia (LULL et al., 2005). No Brasil há registros do uso medicinal e alimentício dos fungos pelos povos indígenas. As espécies *Geaster saccatus* e *Trametes cupreorosea* são utilizadas no tratamento de hemorragias e distúrbios uterinos e *P. sanguineus* em hemoptise (FIDALGO, 1965).

Estes fungos também são uma boa fonte nutritiva. Além de serem apreciados pelo sabor e aroma agradáveis, possuem valor nutricional, pois contêm: carboidratos, gorduras, fibras, proteínas, aminoácidos, cálcio, potássio, iodo, fósforo e vitaminas do complexo B. O

teor dessa composição química varia conforme a espécie e o substrato utilizado para o seu cultivo (BONONI et al., 1999). Dessa forma, o consumo regular destes alimentos constitui uma forma saudável de prevenir o desenvolvimento de desordens metabólicas e garantir o bom funcionamento do organismo, agindo assim, como os denominados alimentos funcionais.

Estes, além de propiciarem uma dieta adequada, contribuem também para o tratamento e prevenção de doenças crônico-degenerativas (LIMA, 2009). Entre os componentes bioativos de cogumelos estão os esteróis, com predominância de ergosterol, o precursor da vitamina D. Em cogumelos, o ergosterol é convertido em vitamina D₂ (ergocalciferol), quando expostos à radiação UV (CANTORNA et al., 2004).

No Brasil, o consumo per capita é de aproximadamente 30 g por ano, valor baixo quando comparado com países da Europa e da Ásia onde esse número varia de 2 a 4 kg por ano (EMBRAPA, 2006).

2.2.1.1 Antitumorais

Existem pelo menos 651 espécies de basidiomicetos superiores que contêm metabólitos com atividade antitumoral ou imunoestimulante (LULL et al., 2005). No Leste Europeu, corpos de frutificação da espécie *I. obliquus* têm sido utilizados na medicina popular contra o câncer, úlcera e gastrite desde o século 16 ou 17. Efeitos antitumorais de vários extratos e compostos isolados puderam ser demonstrados em sistemas de células de tumor e em ensaios com animais (LINDEQUIST et al., 2005).

O Shiitake (*L. edodes*) é a espécie mais estudada no combate ao câncer. Em 1969, Chihara et al. isolaram um polissacarídeo a partir da parede celular deste fungo, o qual foi chamado de lentiniana. Este composto possui alta massa molecular, é solúvel em água, resistente a temperaturas elevadas e estável frente a ácidos e bases fracas (DIAS, 2005; LIMA, 2009). A sua atividade antitumoral foi originalmente comprovada por estudos *in vivo* contra Sarcoma 180 (LIMA, 2009). Na verdade, lentiniana é um dos três primeiros medicamentos antitumorais importantes desenvolvidos a partir de cogumelos medicinais, sendo os três do tipo β -glucanas (NIKITINA et al., 2007). Os outros dois medicamentos são: Krestin (PSK), isolado do micélio de *T. versicolor* contendo (1-4),(1-3) ou (1-4),(1-6)- β -D-glucana; Schizophyllan, uma (1-3),(1-6)- β -D-glucana de alta massa molecular obtida do filtrado do cultivo de *Schizophyllum commune* (Figura 3) (LIMA, 2009).

Desde o isolamento de lentiniana, muitas pesquisas vêm sendo realizadas em busca de novos compostos com atividade antitumorais produzidos por basidiomicetos. Assim, vários outros compostos antitumorais têm sido reportados na literatura. A partir do corpo de

frutificação de *G. lucidum* foi isolado um proteoglicano chamado GLIS, que em tratamento *in vivo* causou a inibição de 60% do crescimento de tumor em camundongos (ZHANG et al., 2010).

O extrato etanólico do cogumelo comestível *Ramaria flava* mostrou atividade inibitória contra três diferentes linhagens tumorais quando a concentração foi de 200 µg/mL (LIU et al., 2013b). No mesmo ano, uma pesquisa publicada por LIU et al. (2013a), relatou que o extrato etanólico de *Antrodia cinnamomea* inibiu a proliferação de células leucêmicas, e, num modelo *in vivo*, o tratamento com este extrato reduziu a infiltração de células leucêmicas no fígado e baço e reduziu o crescimento do tumor. Tsai et al. (2013) isolaram uma glicoproteína do basidiocarpo de *Hypsizygus marmoreus* que exerce alto efeito inibitório sobre células leucêmicas humanas e apresenta segurança toxicológica suficiente sobre as células brancas do sangue humano.

A partir do corpo de frutificação de *Grifola frondosa* foi isolado um polissacarídeo solúvel em água nomeado GFPW. A derivação sulfatada deste polissacarídeo reduziu significativamente a proliferação de células HMEC-1 (células endoteliais microvasculares humanas). Assim, este composto apresentou resultados promissores e surge como uma nova opção para o desenvolvimento de um agente antiangiogênico (WANG et al., 2014).

2.2.1.2 Antioxidantes

As oxidações são reações essenciais nos processos biológicos de muitos organismos. No entanto, as espécies reativas de oxigênio (ROS), que são continuamente produzidas *in vivo*, podem estar relacionadas com o envelhecimento e doenças, tais como a aterosclerose, diabetes, cancro e cirrose. Além disso, os radicais livres também podem contribuir para o declínio gradual do sistema imune (SASIDHARAN et al., 2010; KOZARSKI et al., 2012; HAKIME-SILVA et al., 2013).

Os antioxidantes são um conjunto heterogêneo de substâncias formadas por vitaminas, minerais, pigmentos naturais, outros compostos vegetais e ainda enzimas (SOUZA, 2009). Uma substância é considerada antioxidante quando previne ou retarda a oxidação mesmo estando em baixa concentração em relação ao substrato a ser oxidado e, além disso, deve formar radicais estáveis após a reação (BORGUINI; TORRES, 2006). Os antioxidantes estão em constante atividade nos organismos vivos, necessitando estar em quantidades suficientes para neutralizar os efeitos tóxicos dos radicais livres que são constantemente produzidos (DUBOST et al., 2007).

As propriedades de eliminação de radicais livres e antioxidantes do conteúdo fenólico dos extratos metanólicos de cogumelos têm sido relatadas, sugerindo possíveis papéis protetores destes compostos, devido à sua capacidade para capturar os metais, inibir lipoxigenase e eliminar os radicais livres (OYETAYO, 2009). Os compostos antioxidantes podem ser isolados de diferentes partes do basidiomiceto (haste, corpo de frutificação), do micélio e do próprio caldo de fermentação (LIMA, 2009).

Recentemente, Carneiro et al. (2013) relataram as propriedades antioxidantes de formulações em pó secos de *Agaricus blazei* e *L. edodes*. Estas duas espécies estão entre as mais estudadas do mundo, mas a maior parte das pesquisas tem focado em seus corpos de frutificação (SASIDHARAN et al., 2010; AL-DBASS et al., 2012; KOZARSKI et al., 2012; HAKIME-SILVA et al., 2013).

Estudos feitos por Kalogeropoulos et al. (2013) indicaram atividade antioxidante para os fungos *Lactarius deliciosus*, *L. sanguifluus*, *L. semisanguifluus*, *Suillus bellinii* e *Russula delica*. Nandi et al. (2014) detectaram atividade antioxidante em outro fungo pertencente ao gênero *Russula*. Estes pesquisadores relataram que uma β -glucana solúvel em água foi isolada do extrato alcalino do cogumelo comestível *R. albonigra* e exibiu potente atividade antioxidante em ensaios *in vitro*. Os polissacarídeos do tipo β -glucanas são agentes oxidantes bem conhecidos (KOFUJI et al., 2012).

A partir de *Pleurotus tuber-regium*, Wu et al. (2014) isolaram um polissacarídeo que apresentou forte poder antioxidante, considerando-o como um candidato potencial para o desenvolvimento de um agente antioxidante seguro.

A identificação e o isolamento dos compostos bioativos dependem da manipulação da matéria-prima e do tipo de extração. Geralmente, os cogumelos são consumidos desidratados e, para isso, são expostos a temperaturas elevadas e presença de oxigênio, causando maior susceptibilidade aos danos oxidativos. Por isso, a desidratação a vácuo, ao abrigo da luz e em baixa temperatura contribui para manutenção da atividade antioxidante (SILVA; JORGE, 2011).

2.2.1.3 Antimicrobianos

Antibióticos são compostos naturais ou sintéticos capazes de inibir o crescimento ou causar a morte de fungos ou bactérias. Podem ser classificados como bactericidas, quando causam a morte da bactéria, ou bacteriostáticos, quando detêm o crescimento microbiano (GUIMARAES et al., 2010).

As primeiras descrições do uso de antibióticos são muito antigas. Em 3000 a.C., os chineses já usavam sapatos mofados para curar feridas infeccionadas nos pés. Entretanto, o primeiro metabólito fúngico com eficácia comprovada foi a penicilina, substância descoberta por Fleming, em 1928, produzida pelo fungo *P. chrysogenum*, cuja capacidade de inibir o crescimento bacteriano foi descoberta acidentalmente. Com esta descoberta, deu-se início à exploração de micro-organismos como fonte de substâncias biologicamente ativas, com ênfase na busca de novas substâncias com atividade antibiótica (TAKAHASHI; LUCAS, 2008).

Os produtos das vias bioquímicas dos fungos incluem produtos farmacêuticos importantes como as penicilinas, ciclosporinas e estatinas. Todos estes produtos naturais, incluindo muitos outros metabólitos fúngicos, são originários do metabolismo secundário destes organismos. Metabólitos secundários são definidos como compostos de baixo peso molecular que não são essenciais para o crescimento do organismo. Caracterizam-se pela grande diversidade de estrutura química e variação de forma em diferentes condições ambientais e conferem uma vantagem seletiva ao organismo produtor. A prevalência de drogas antimicrobianas derivadas de produtos naturais pode ser explicada graças a esta complexidade estrutural, que é necessária para a inibição de várias proteínas-alvo antibacterianas (KELLER et al., 2005; BUTLER; BUSS, 2006). Os metabólitos secundários são a fonte da maior parte dos medicamentos em utilização na clínica atualmente. O levantamento mais recente das fontes de drogas indicou que os produtos naturais são responsáveis por mais de 75% dos 97 antibacterianos aprovados durante 1981-1996, destacando a importância contínua de produtos naturais como a base de novas terapias para doenças infecciosas bacterianas (TAYLOR, 2013).

Naturalmente, os basidiomicetos necessitam produzir compostos antibacterianos e antifúngicos para sobreviver no meio ambiente. Portanto, não causa espanto que compostos antimicrobianos, com diferentes potenciais, possam ser isolados de muitos destes fungos e que estes possam ser benéficos à humanidade (LINDEQUIST et al., 2005).

Em 1946, foi isolado o composto antibacteriano poliporina a partir do fungo *P. sanguineus*, o qual é eficaz contra micro-organismos Gram positivos e Gram negativos (ROSA et al., 2003). Posteriormente, foi isolado outro composto com atividade antibiótica deste fungo, chamado cinabarina, um pigmento alaranjado que foi ativo contra *Bacillus cereus*, *E. coli*, *Enterococcus faecium*, *E. faecalis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Lactobacillus plantarum*, *P. aeruginosa*, *Salmonella* sp., *S. typhi*, *S. aureus* e vários *Streptococcus* spp. (SMANIA et al., 1995; 1997). Keller et al. (1996) isolaram dois

compostos com atividade antibiótica contra *Bacillus subtilis*, são: ácido 3 α -acetiloxilano-8,24-dien-21-oico e ácido piloporênico, ambos do fungo *Fomitopsis pinicola*. Mothana et al. (2000) isolaram dois compostos com atividade antimicrobiana contra várias bactérias Gram positivas e Gram negativas a partir do fungo *G. pfeifferi*, estes compostos foram chamados de ganomicina A e B. Paralelamente, outros compostos com atividade antibacteriana foram sendo descritos, como o ácido oxálico de *Lentinula edodes* (BENDER et al., 2003), a agrocibina de *Agrocybe dura* (ROSA et al., 2003), desoxihipnofilina, hipnofilina, 6,7-epoxi-4(15)-hirsuteno-5-ol e 6,7-epoxi-4(15)-hirsuteno-1,5-diol de *Lentinus crinitus*. Outros metabólitos que apresentam propriedades antimicrobianas contra vários fungos e bactérias são os ácidos merulínicos A, B e C, obtidos de *Phlebia radiata* e *Merulius tremellosus*. O patógeno *Mycobacterium phlei* foi seletivamente inibido pelos ácidos merulínicos B e C, enquanto que A era inativo. Do mesmo modo, *S. aureus* e *Proteus vulgaris* foram inibidos apenas pelo ácido merulínico B. É interessante que as culturas de micélio de *M. tremellosus* não produzem ácidos merulínicos, em vez disso produzem um sesquiterpeno altamente antifúngico, o merulidial. Este fato serve como um exemplo da influência das diferentes fases do ciclo de vida na produção de metabólitos secundários de fungos (ZJAWIONY, 2004).

Além dos compostos citados (Figura 4), vários trabalhos descrevem a atividade antimicrobiana destes fungos a partir de seus extratos, muitas vezes sem determinar o composto bioativo. Na Tabela 1, encontram-se alguns trabalhos realizados entre os anos 2006 e 2013 que relatam a atividade antimicrobiana contra bactérias Gram positivas e Gram negativas e fungos.

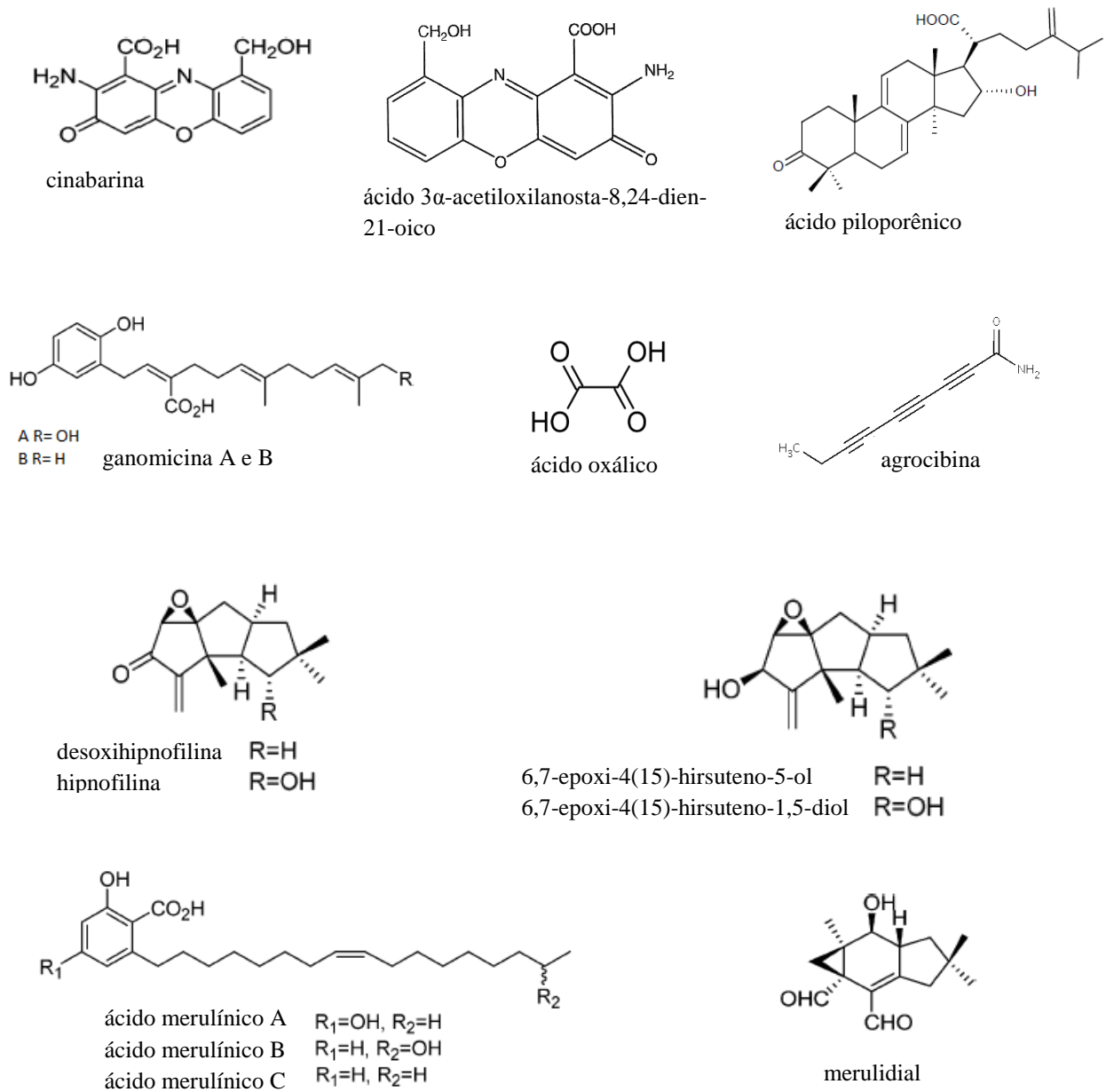


Figura 4 – Estrutura dos compostos antimicrobianos isolados a partir de basidiomicetos

Tabela 1 - Espécies de basidiomicetos produtoras de metabólitos antimicrobianos

Patógeno	Basidiomiceto	Referência
<i>Aspergillus niger</i>	<i>Coprinus comatus</i> , <i>Ganoderma carnosum</i> , <i>G. lucidum</i> , <i>G. resinaceum</i> , <i>Laetiporus sulphureus</i> , <i>Lentinula edodes</i> , <i>Mycena pura</i> , <i>Phellinus</i> spp., <i>Polyporus arcularius</i> , <i>Trametes hirsuta</i>	Hearst et al. (2009); Balakumar et al. (2011); Hearst et al. (2010); Srivastava; Sharma (2011); Sivaprakasam et al. (2011); Heleno et al. (2013b)
<i>Bacillus cereus</i>	<i>Auricularia auricula</i> , <i>Auricularia</i> sp., <i>G. resinaceum</i> , <i>Hygrophorus miniatus</i> , <i>Inocybe grammata</i> , <i>Lentinus squarrosulus</i> , <i>M. pura</i> , <i>Pleurotus sajor-caju</i> , <i>Russula albonigra</i> , <i>R. fragilis</i> , <i>Schizophyllum commune</i> , <i>Termitomyces microcarpus</i> , <i>Thymelaea hirsuta</i> , <i>Tricholoma crissum</i> , <i>T. giganteum</i> , <i>Tricholoma</i> sp., <i>Volvariella volvacea</i>	Hearst et al. (2010); Giri et al. (2012); Trigui et al. (2013)
<i>B. subtilis</i>	<i>Agaricus campestris</i> , <i>Ganoderma</i> spp., <i>L. edodes</i> , <i>L. squarrosulus</i> , <i>Lenzites betulina</i> , <i>Lepiota procera</i> , <i>Marasmiium oreades</i> , <i>Phellinus</i> spp., <i>P. ostreatus</i> , <i>R. albonigra</i> , <i>R. delica</i> , <i>T. hirsuta</i> , <i>T. giganteum</i>	Yamaç; Bilgili (2006); Getha et al. (2009); Casaril et al. (2011); Etim et al. (2012); Giri et al. (2012); Trigui et al. (2013)
<i>Candida albicans</i>	<i>A. arvensis</i> , <i>A. bisporus</i> , <i>A. campestris</i> , <i>A. porphyrocephalus</i> , <i>Amanita vaginata</i> , <i>Amauroderma</i> sp., <i>Astraeus hygrometricus</i> , <i>A. auricula</i> , <i>C. comatus</i> , <i>L. edodes</i> , <i>L. crinitus</i> , <i>L. squarrosulus</i> , <i>L. cristata</i> , <i>L. procera</i> , <i>P. djamor</i> var. <i>djamor</i> , <i>P. squarrosolus</i> , <i>Pycnoporus sanguineus</i> , <i>R. albonigra</i> , <i>R. laurocerasi</i> , <i>R. lepida</i> , <i>R. vesca</i> , <i>S. commune</i> , <i>T. lobayense</i> , <i>T. sp.</i> , <i>V. volvacea</i>	Carvalho (2007); Moglad et al. (2011); Giri et al. (2012); Saadabi (2012)
<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>M. oreades</i> , <i>T. hirsuta</i>	Etim et al. (2012); Trigui et al. (2013).
<i>Escherichia coli</i>	<i>A. arvensis</i> , <i>A. bisporus</i> , <i>A. porphyrocephalus</i> , <i>A. vaginata</i> , <i>Amauroderma</i> sp., <i>Armillaria mellea</i> , <i>A. hygrometricus</i> , <i>Coprinellus micaceus</i> , <i>C. comatus</i> , <i>Fistulina hepatica</i> , <i>G. applanatum</i> , <i>L. edodes</i> , <i>L. crinitus</i> , <i>L. squarrosulus</i> , <i>L. betulina</i> , <i>L. cristata</i> , <i>L. procera</i> , <i>M. oreades</i> , <i>Morchella esculenta</i> , <i>M. pura</i> , <i>Phellinus</i> spp., <i>P. ostreatus</i> , <i>P. sajor-caju</i> , <i>P. grammocephalus</i> , <i>Psathyrella atroumbonata</i> , <i>P. sanguineus</i> , <i>R. albonigra</i> , <i>R. delica</i> , <i>R. fragilis</i> , <i>R. lepida</i> , <i>S. commune</i> , <i>V. volvacea</i> , <i>T. eurhizus</i> , <i>T. hirsuta</i> , <i>T. giganteum</i> , <i>V. volvacea</i>	Tambekar et al. (2006); Yamaç; Bilgili (2006); Carvalho (2007); Souza (2009); Hearst et al. (2010); Ayodele; Idoko (2011); Balakumar et al. (2011); Casaril et al. (2011); Muhsin et al. (2011); Srivastava; Sharma (2011); Etim et al. (2012); Giri et al. (2012); Moglad; Saadabi (2012); Heleno et al. (2013a); Trigui et al. (2013)

Patógeno	Basidiomiceto	Referência
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>A. bisporus</i> , <i>M. esculenta</i> , <i>P. sajour-caju</i> , <i>T. hirsuta</i>	Tambekar et al. (2006); Trigui et al. (2013)
<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>L. edodes</i> , <i>T. hirsuta</i>	Souza (2009); Heleno et al. (2013a); Trigui et al. (2013)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>A. bisporus</i> , <i>A. campestris</i> , <i>A. porphyrocephalus</i> , <i>A. hygrometricus</i> , <i>A. auricula</i> , <i>Auricularia</i> sp., <i>Calocybe indica</i> , <i>H. miniatus</i> , <i>L. edodes</i> , <i>L. squarrosulus</i> , <i>L. procera</i> , <i>Lepiota</i> sp., <i>M. oreades</i> , <i>Phellinus</i> spp., <i>P. ostreatus</i> , <i>P. sajour-caju</i> , <i>P. grammacephalus</i> , <i>P. sanguineus</i> , <i>R. albonigra</i> , <i>R. delica</i> , <i>R. laurocerasi</i> , <i>R. lepida</i> , <i>S. commune</i> , <i>T. clypeatus</i> , <i>T. hirsuta</i> , <i>T. giganteum</i> , <i>T. lobayense</i>	Tambekar et al. (2006); Souza (2009); Vanderlinde; Onofre (2010); Balakumar et al. (2011); Etim et al. (2012); Giri et al. (2012); Moglad; Saadabi (2012); Trigui et al. (2013)
<i>Salmonella typhimurium</i>	<i>M. oreades</i> , <i>M. esculenta</i> , <i>P. ostreatus</i>	Etim et al. (2012); Heleno et al. (2013a)
<i>S. typhi</i>	<i>A. bisporus</i> , <i>Phelinnus</i> sp., <i>P. sajour-caju</i>	Tambekar et al., (2006); Balakumar et al., (2011)
<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>A. arvensis</i> , <i>A. bisporus</i> , <i>A. porphyrocephalus</i> , <i>A. vaginata</i> , <i>Amauroderma</i> sp., <i>A. mellea</i> , <i>C. comatus</i> , <i>G. applanatum</i> , <i>Ganoderma</i> spp., <i>L. sulphureus</i> , <i>L. edodes</i> , <i>L. crinitus</i> , <i>L. squarrosulus</i> , <i>L. betulina</i> , <i>L. cristata</i> , <i>M. oreades</i> , <i>M. esculenta</i> , <i>Phelinnus</i> spp., <i>P. ostreatus</i> , <i>P. sajour-caju</i> , <i>Psathyrella atroumbonata</i> , <i>P. sanguineus</i> , <i>R. albonigra</i> , <i>R. lepida</i> , <i>T. hirsuta</i> , <i>T. giganteum</i>	Tambekar et al. (2006); Yamaç; Bilgili (2006); Carvalho (2007); Getha et al. (2009); Souza (2009); Vanderlinde; Onofre (2010); Athayde (2011); Ayodele; Idoko (2011); Balakumar et al. (2011); Muhsin et al. (2011); Srivastava; Sharma (2011); Etim et al. (2012); Giri et al. (2012); Moglad; Saadabi (2012); Heleno et al. (2013a); Trigui et al. (2013)
<i>S. epidermidis</i>	<i>A. bisporus</i> , <i>P. sajour-caju</i> , <i>P. sanguineus</i> , <i>T. hirsuta</i>	Tambekar et al. (2006); Vanderlinde; Onofre (2010); Trigui et al. (2013)
<i>Streptococcus mutans</i>	<i>Phelinnus</i> spp., <i>P. sanguineus</i>	Athayde (2011); Balakumar et al. (2011)

2.3 Resistência aos antibióticos

A terapia antimicrobiana transformou a prática médica de uma abordagem meramente diagnóstica a uma abordagem focada no tratamento, salvando milhões de vidas nos anos seguintes. Oitenta anos depois, a eficácia de antibióticos está seriamente ameaçada pela resistência de bactérias a todos os antibióticos disponíveis atualmente, uma realidade com imensas consequências sobre as sociedades em todo o mundo (PAPHITOU, 2013).

O desenvolvimento de resistência geralmente é consequência do mau uso de antibióticos, que exerce pressão seletiva indevida sobre micro-organismos, combinado com práticas ineficazes de controle de infecção que aceleram a sua propagação (PAPHITOU, 2013). Qualquer pessoa pode ser afetada, incluindo pacientes hospitalizados, especialmente em unidades de terapia intensiva (UTI), onde a prevalência de bactérias resistentes é alta. Além disso, pessoas da comunidade também estão em risco de infecção por *S. aureus* resistente à meticilina associado à comunidade (MRSA), ou com *Salmonella* ou *Campylobacter* resistentes a ciprofloxacina (através da carne ou ovos contaminados).

No passado, um suprimento constante de novos antibióticos eficazes contra cepas resistentes emergentes tratou adequadamente as preocupações de resistência. Hoje em dia, a pressão seletiva favorece não só as bactérias com um único, mas com vários determinantes de resistência. Paralelamente, o aumento da mobilidade de pessoas em todo o mundo cria um terreno favorável ao surgimento de patógenos resistentes a múltiplas drogas (MDR) (THEURETZBACHER, 2012).

Além disto, os antibióticos têm várias aplicações na agricultura e, de forma semelhante ao uso de todos os antibióticos, são capazes de promover a seleção de bactérias resistentes. Os animais podem servir como reservatórios e disseminadores de cepas resistentes através dos alimentos, bem como contato direto ou indireto. Além disso, a transferência genética horizontal pode ocorrer entre diferentes espécies bacterianas no intestino dos animais e dos seres humanos (PAPHITOU, 2013).

Aproximadamente 15.000 toneladas de antibióticos são utilizadas nas rações para animais por ano (FURUYA; LOWY, 2006). Eles podem ser utilizados para o tratamento de doenças infecciosas, para promover o crescimento do animal ou profilaxia. Neste caso, os antibióticos são ministrados aos animais durante os períodos ou condições que os colocam em risco de contrair uma infecção (por exemplo, antes do transporte ou outras condições estressantes, durante possíveis surtos e durante o período seco para a prevenção da mastite em vacas) (PAPHITOU, 2013).

Outro fator agravante é que as bactérias que possuem genes que conferem resistência têm uma vantagem adaptativa que facilita a sua dispersão. Elas possuem características que facilitam sua colonização e sobrevivência em diversos tipos de ambientes; por exemplo, as bactérias esporuladas podem permanecer sobre superfícies, sendo resistentes ao calor e a muitos bactericidas; a formação de biofilmes limita o acesso do antibiótico às bactérias contidas neles e os fatores de virulência bacterianos, como a presença de cápsula e ácido teicóico, facilitam sua persistência e disseminação (FURUYA; LOWY, 2006).

Sem dúvida, a resistência bacteriana atingiu um ponto em que é reconhecido como um dos principais desafios médicos na maioria dos sistemas de saúde. Apesar da grande variação regional e local na incidência de bactérias resistentes, a maioria dos médicos está ciente dos problemas causados por MDR. Em uma pesquisa entre Unidades de Tratamento Intensivo (UTI's) européias, 80% dos médicos observaram que as infecções causadas por bactérias resistentes em UTI foi um grande problema (THEURETZBACHER, 2012).

Assim, os esforços de pesquisa para trazer novos antibióticos eficazes para os pacientes precisam ser promovidos, a fim de anular as consequências da atual falta de opções terapêuticas antimicrobianas (PAPHITOU, 2013).

3 OBJETIVOS

3.1 Geral

Avaliar a atividade antimicrobiana de oito basidiomicetos contra micro-organismos patogênicos humanos.

3.2 Específicos

Realizar identificação molecular dos basidiomicetos.

Avaliar a atividade antimicrobiana *in vitro* de seus filtrados e extratos contra bactérias Gram positivas e Gram negativas, *Candida albicans*, *Aspergillus niger* e *Penicillium* sp.

Identificar a Concentração Inibitória Mínima (CIM) dos filtrados com atividade antimicrobiana.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Material biológico

4.1.1 Fungos

Foram utilizadas oito culturas de basidiomicetos depositadas na Coleção de Macrofungos de Interesse Agrossilvicultural, do Instituto Nacional de Pesquisas na Amazônia (Tabela 2).

Tabela 2 - Fungos selecionados para a avaliação da atividade antimicrobiana

Nº de registro da cultura	Espécie	Local de coleta
347	Basidiomycete	Manaus
474	<i>Pleurotus ostreatus</i>	Manaus
1153	<i>Gloeophyllum trabeum</i>	Boa Vista
1210	Agaricales	Manaus
1232	<i>Boletus</i> sp.	Manaus
1528	Agaricales	Manaus
1540	<i>P. ostreatoroseus</i>	Manaus
1552	<i>Trametes cervina</i>	Manaus

Os fungos selecionados foram inoculados em meio ágar malte (30 g.L⁻¹ de extrato de malte, 15 g.L⁻¹ de ágar, sem ajuste de pH) acrescido de serragem de buriti para que o metabolismo dos mesmos fossem reativados. Em seguida, as placas foram mantidas a temperatura ambiente por 7-10 dias. Após esse período, foram realizados repiques em placas de Petri contendo somente meio ágar malte para manutenção das culturas e continuação dos experimentos.

4.1.2 Micro-organismos patogênicos

As culturas dos patógenos *E. coli* CBAM 001, *S. aureus* CBAM 324, *C. albicans* CFAM 1342, *A. niger* CFAM 161 e *Penicillium* sp. CFAM 059 foram cedidas pela Coleção de Bactérias da Amazônia – CBAM e pela Coleção de Fungos da Amazônia - CFAM, da Fundação Oswaldo Cruz – FIOCRUZ.

4.2 Identificação molecular

4.2.1 Extração de DNA

A extração de DNA ribossomal dos fungos foi realizada segundo metodologia indicada pelo kit de extração *Norgen Biotek* #26200. Os fungos foram cultivados em meio líquido e incubados à temperatura ambiente por dez dias sem agitação. Posteriormente, foram filtrados com gaze estéril e armazenados em *freezer* até a extração. O DNA genômico obtido foi quantificado utilizando *Eppendorf BioSpectrometer*[®].

4.2.2 Amplificação do fragmento do rDNA por Reação de Cadeia da Polimerase (PCR)

Para a amplificação de fragmento gênico do rDNA foram utilizadas as seguintes sequências de oligonucleotídeos: ITS1 (5' – TCCGTAGGTGAACCTGCGG – 3') e ITS4R (5' – TCCTCCGCTTATTGATATGC – 3'). Como controle positivo foi utilizada uma amostra DNA fúngico amplificada anteriormente e como controle negativo foi utilizada água destilada. A reação de PCR teve um volume de 20 µL (25 mM de MgCl₂; 2,5 mM de dNTPs; 5,0 pmol/µL de cada iniciador; 5 U/µL de Taq DNA polimerase; e tampão 1X). O sistema de amplificação foi realizado em termociclador *BIORAD T100*[™] (*ThermalCycler*), e o perfil térmico de PCR foi de um ciclo inicial de desnaturação a 94 °C por 4 min, seguido por 34 ciclos como segue: desnaturação das fitas-molde a 94 °C por 1 min, pareamento dos iniciadores a 50 °C por 1 min e extensão a 72 °C por 1 min. Ao término das ciclagens, o produto amplificado foi analisado usando um marcador de peso molecular *DNA GeneRuler* da Fermentas de 1 Kb em gel de agarose a 0,8%.

4.2.3 Purificação da PCR

Os fragmentos amplificados por PCR foram purificados utilizando PEG 8000, no qual foi adicionado ao produto de PCR um igual volume de solução de PEG (PEG 8000 20% NaCl 2,5M), incubado a 37 °C por 30 min, seguido de centrifugação a 13.400 rpm por 20 min. Os tubos fechados foram colocados com a alça da tampa voltada para a parte externa do rotor, após foi retirado o sobrenadante com o auxílio de um micropipetador, adicionado 125 µL de etanol 80% gelado. O sobrenadante foi descartado com o auxílio de um micropipetador. Após, foi deixado evaporar o etanol residual sobre a bancada. Depois de seco, o sedimento foi ressuspensionado com água deionizada em um volume de 75% ao inicial de amostra. Incubou-se a amostra por 18 horas a - 4 °C. O produto purificado foi quantificado em gel de agarose 0,8%.

4.2.4 Sequenciamento

O material genético foi submetido à reação de amplificação com o kit “*BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit*” (*Applied Biosystems*®) e o sequenciamento realizado em sequenciador automático *Applied Biosystems 3130 XL Genetic Analyzer*. A programação para amplificação em termociclador compreendeu os seguintes ciclos: etapa inicial a 96 °C por 1 min, 25 ciclos de desnaturação a 96 °C por 15 seg, anelamento a 60 °C por 15 seg e extensão a 60 °C por 4 min. O DNA amplificado e marcado foi purificado antes do sequenciamento pela adição de 10 µL de água ultrapura esterilizada, 2 µL de acetato de amônio 7,5 M e 60 µL de etanol absoluto. A solução foi centrifugada a 20.000 rpm por 15 min, e o material precipitado lavado com 500 µL de etanol a 70%, centrifugado (20.000 rpm) por 15 min e seco *overnight* à temperatura ambiente. Em seguida, as amostras de DNA foram solubilizadas em solução tampão com formamida, desnaturadas (96 °C, 5 min) e analisadas no sequenciador automático.

As sequências da região do rDNA obtidas foram submetidas *online* para comparação com os dados disponíveis na base de dados do *GenBank* (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/>) utilizando o modo de pesquisa BLAST.

4.3 Avaliação da atividade antimicrobiana

4.3.1 Cultivo dos fungos em meio líquido

Após reativação, os fungos foram inoculados em placas contendo meio ágar malte, as quais foram incubadas a temperatura ambiente (± 26 °C) por 7-10 dias (até que se atingisse a borda da placa). Após esse período, foram retirados com ponteira estéril (capacidade de 1000 µL) inóculos de aproximadamente 7 mm de diâmetro de toda a extensão de crescimento micelial. A seguir, três destes inóculos foram depositados nos caldos de cultivo malte e GLP (20 g.L⁻¹ de glicose, 10 g.L⁻¹ de peptona, 2 g.L⁻¹ de extrato de levedura, sem ajuste de pH) em frascos Erlenmeyer com capacidade de 250 mL contendo 100 mL de caldo de cultivo. Os Erlenmeyers foram incubados em agitador rotatório a 160 rpm em temperatura ambiente. Os filtrados foram obtidos a cada sete dias, até o 63º dia de cultivo, totalizando 18 tratamentos (Figura 5). O controle consistiu de Erlenmeyers contendo somente caldo de cultivo.

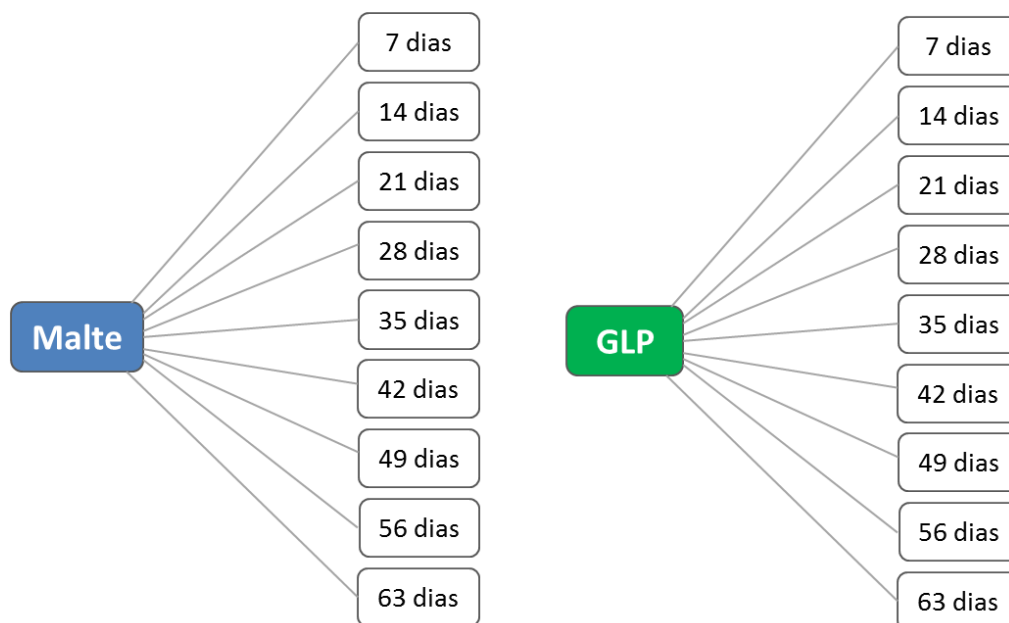


Figura 5 - Esquema de tratamentos no cultivo das linhagens de basidiomicetos

*Meio de cultura contendo glicose, extrato de levedura e peptona

4.3.2 Obtenção do filtrado

Após o cultivo submerso, a biomassa foi separada do sobrenadante por filtração simples utilizando gaze estéril. Em seguida, todos os filtrados foram passados em membrana *Millipore* 0,22 μm e armazenados em *freezer* a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ até a execução dos testes.

4.3.3 Extratos obtidos do cultivo em meio sólido

Os fungos foram inoculados em placas de Petri com ágar malte e incubados a temperatura ambiente até o sétimo dia de crescimento, quando foram retirados inóculos de aproximadamente 7 mm da porção mais nova da colônia (borda). A seguir, foi depositado um inóculo de cada fungo em Erlenmeyers de 250 mL contendo 100 mL de meio ágar malte. Os fungos foram mantidos em duas condições de incubação: ausência e presença de luz, ambos em temperatura ambiente ($\pm 26\text{ }^{\circ}\text{C}$) por dez dias. A seguir, com o auxílio de um bisturi estéril, os fungos foram cortados em pedaços e levados para capela, onde 150 mL de acetato de etila foram depositados em cada Erlenmeyer. Estes permaneceram inertes por três dias para a extração dos compostos bioativos. Em seguida, foi realizada filtração simples utilizando gaze com algodão hidrófilo, e os extratos permaneceram na capela até total evaporação do solvente. Após a evaporação, os extratos foram acondicionados em frasco de vidro para penicilina, os quais foram mantidos protegidos da luz e em temperatura ambiente. Para a realização dos testes, os extratos foram diluídos em Dimetilsulfóxido – DMSO: 1,5

mL de DMSO para os extratos com maior rendimento e 2,5 mL para os extratos com pouco rendimento.

4.3.4 Preparo do inóculo dos patógenos

4.3.4.1 Bactérias

Os inóculos das suspensões bacterianas de *E. coli* CBAM 001 e *S. aureus* CBAM 324 foram preparados a partir de uma cultura crescida 24h a 37 °C em placa de Petri com meio ágar Muller-Hinton. Com o auxílio de uma alça de platina, colônias foram transferidas para um tubo de ensaio com 10 mL de água destilada estéril, o qual foi agitado vigorosamente até que a suspensão estivesse uniforme. Este procedimento foi realizado até que a suspensão celular apresentasse turbidez comparável à coluna nº 1 da escala de McFarland, o que corresponde a 3×10^8 UFC/mL.

4.3.4.2 Fungos

A cultura de *C. albicans* CFAM 1342 foi inoculada em placa com meio ágar-Sabouraud (30 g.L⁻¹ de dextrose, 10 g.L⁻¹ de peptona, 15 g.L⁻¹ de ágar) a qual foi incubada a 28 °C, por 48 horas. Após este período, a cultura foi utilizada no preparo de suspensões celulares com concentrações ajustadas com água destilada estéril, de modo a obter uma turbidez óptica comparável à coluna nº 1 da escala de McFarland.

Os fungos filamentosos *A. niger* CFAM 161 e *Penicillium* sp. CFAM 059 foram inoculados em meio ágar-Sabouraud e incubados a 28 °C por 7-10 dias. Em seguida, pequenos fragmentos destes patógenos foram utilizados no preparo de suspensões de conídios em tubos com 10 mL de água destilada estéril, os quais foram agitados em Vórtex até que a suspensão estivesse homogênea.

4.3.5 Teste de difusão em ágar

A partir da suspensão dos patógenos, 150 µL foram retirados e semeados com auxílio de swab na superfície do meio ágar-Sabouraud (*C. albicans* CFAM 1342, *A. niger* CFAM 161 e *Penicillium* sp. CFAM 059) e ágar Mueller-Hinton (*E. coli* CBAM 001 e *S. aureus* CBAM 324), em placa de Petri (10 mm x 90 mm), formando uma camada uniforme. Em seguida, os meios foram perfurados utilizando ponteira estéril (capacidade de 1000 µL) de modo a se obter três poços com 7 mm de diâmetro em cada placa. Os filtrados e extratos obtidos conforme item 4.3.2 e 4.3.3 foram depositados nos orifícios perfurados no ágar, sendo 100 µL em cada poço. O controle consistiu na aplicação de discos de papel de filtro

contendo cloranfenicol (5 mg/mL) ou itraconazol (5 mg/mL) no centro das placas. No teste com os extratos foram realizados controles diferenciados com aplicação de DMSO e acetato de etila nos poços. As placas com bactérias foram incubadas a 37 °C durante 24-48 horas, as placas com levedura foram mantidas a 28 °C durante 48 horas e as placas com *A. niger* e *Penicillium* sp. foram incubadas a 28 °C até que houvesse crescimento dos patógenos. A avaliação consistiu na determinação da presença/ausência de halos e medição dos mesmos, sendo calculada a média dos três poços.

4.4 Concentração inibitória mínima (CIM)

A concentração inibitória mínima (CIM) é definida como a menor concentração de um agente antimicrobiano que impede o crescimento visível de um micro-organismo em testes de sensibilidade.

A CIM foi determinada pelo método de microdiluição (TELLES; MOSCA, 2000) para os filtrados cuja atividade antimicrobiana foi determinada no teste de difusão em ágar. Inicialmente, os filtrados foram liofilizados, pesados e ressuspensos em água destilada estéril até alcançar a concentração de 10 mg/mL. A seguir, em microplacas de 96 poços foram distribuídos 100 µL de caldo de cultivo Sabouraud em todos os orifícios. Na linha A da placa foram adicionados 100 µL do filtrado a ser analisado. Em seguida, foram realizadas diluições seriadas, transferindo-se 100 µL da linha A para a linha B, e assim sucessivamente até alcançar a linha G, totalizando sete concentrações analisadas: 5, 2,5, 1,25, 0,625, 0,312, 0,156 e 0,078 mg/mL. A última linha da placa foi utilizada como controle, sendo as colunas de 1-5 destinadas ao controle positivo (patógeno e meio de cultura), as colunas 6-10 ao controle negativo (água destilada e meio de cultura) e as colunas 11 e 12 foram destinadas ao controle de pureza da solução indicadora (indicador e meio de cultura). Em todos os poços, exceto nos controles, foram inoculados 25 µL da suspensão do patógeno (tópico 4.2.4). E, por último, foram inoculados 25 µL da solução indicadora Cloreto de Trifeniltetrazolium (TCC) a 1,0% diluído em água destilada estéril, em todos os poços da microplaca (Tabela 3). O indicador TCC é um sal tetrazolium cuja forma reduzida é de cor púrpura e indica crescimento celular. O teste para determinação da CIM foi realizado em triplicata (Figura 6).

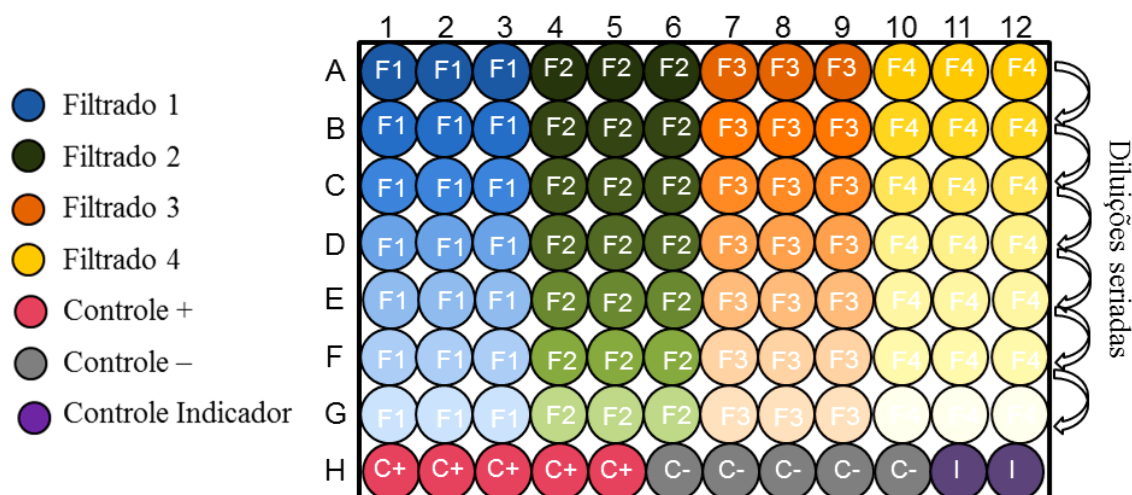


Figura 6 - Método de inoculação em microplacas para determinação da Concentração inibitória mínima

Tabela 3 - Descrição de preenchimento dos poços das microplacas para o teste de microdiluição

	Teste de amostra	Controle positivo	Controle negativo	Controle da solução indicadora
Caldo de cultivo Sabouraud	100 µL	100 µL	100 µL	100 µL
Filtrado ressuscitado (10 mg/mL)	100 µL	-	-	-
H ₂ O destilada	-	-	25 µL	-
Inóculo do patógeno	25 µL	25 µL	-	-
Solução indicadora (TCC)	25 µL	25 µL	25 µL	25 µL

4.5 Determinação da ação dos filtrados

Paralelamente, a ação dos filtrados foi determinada e classificada em fungicida ou fungistática. Para isto, a menor concentração de cada filtrado capaz de inibir o crescimento microbiano foi selecionada e retiradas alíquotas de cada um dos três poços (repetições). Estas foram semeadas em placas com meio ágar-Sabouraud isenta de antifúngico e incubadas de acordo com a temperatura ideal para o patógeno.

Para interpretação dos resultados foram considerados os seguintes critérios:

- Crescimento do micro-organismo no meio de cultura - Fungistático;
- Ausência do crescimento do micro-organismo no meio de cultura - Fungicida.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Identificação molecular

Após a extração de DNA, as amostras foram visualizadas em gel de agarose 0,8% (Figura 7), em seguida foi realizada a PCR para o gene rDNA (Figura 8), purificação da PCR (Figura 9), sequenciamento e comparação dos resultados com o banco de dados do *National Center for Biotechnology Information - NCBI* (Anexos 1-8).

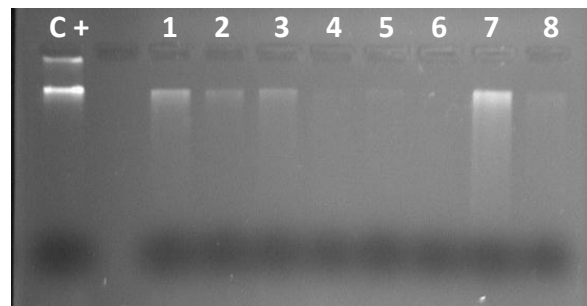


Figura 7 – Quantificação do DNA genômico dos basidiomicetos em gel de agarose 0,8%. C+: DNA cromossomal. Isolados de 1 a 8: 347, 474, 1153, 1552, 1210, 1232, 1528 e 1540

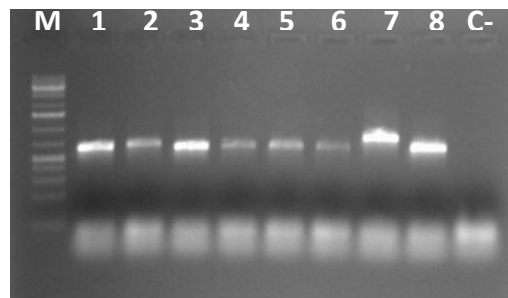


Figura 8 – Amplificação do fragmento do rDNA dos basidiomicetos. M: marcador de 1Kb Fermentas. Isolados de 1 a 8: 347, 474, 1153, 1552, 1210, 1232, 1528 e 1540. C-: controle negativo

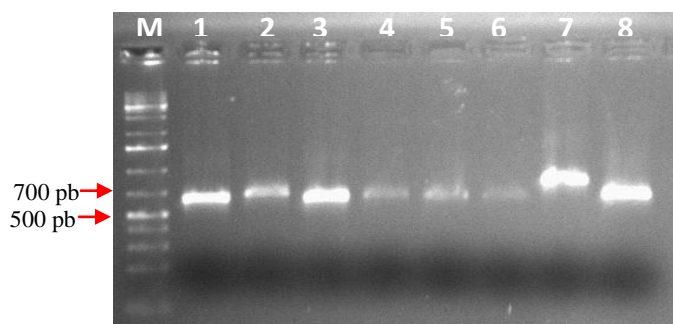


Figura 9 – Purificação das amostras com PEG 8000 em gel de agarose 0,8%. M: marcador de 1Kb Fermentas, Isolados de 1 a 8: 347, 474, 1153, 1552, 1210, 1232, 1528 e 1540

A similaridade das sequências obtidas foram comparadas com as depositadas no bancos de dados do NCBI e são apresentadas na Tabela 4, comparando-se somente com os resultados de sequências de trabalhos publicados.

Tabela 4 – Resultados da busca e comparação das sequências obtidas com as sequências depositadas no banco de dados do *National Center for Biotechnology Information*

Cultura	Espécie NCBI	Similaridade (%)	Identidade (%)	Número de acesso NCBI	Táxon
347	<i>Schizophyllum commune</i>	94	90	AF280759.1	Basidiomycete
	<i>S. commune</i>	78	94	AF249390.1	
	<i>S. commune</i>	93	90	GQ249870.1	
474	<i>Pleurotus ostreatus</i>	100	99	KC686865.1	<i>Pleurotus</i> sp.
	<i>P. sapidus</i>	100	99	HM561982.1	
	<i>P. ostreatus</i>	100	99	GU722280.1	
1153	<i>Gloeophyllum striatum</i>	93	97	KJ141171.1	<i>Gloeophyllum</i> sp.
	<i>G. striatum</i>	93	96	HM536092.1	
	<i>G. trabeum</i>	90	94	AY089733.1	
1210	<i>S. commune</i>	100	99	AF280759.1	<i>S. commune</i>
	<i>S. commune</i>	99	99	FJ372688.1	
1232	<i>Trametes versicolor</i>	100	99	FJ608587.1	<i>Trametes</i> sp.
	<i>T. hirsuta</i>	100	99	JX501305.1	
	<i>T. hirsuta</i>	100	99	JN164953.1	
1528	<i>Oudemansiella canarii</i>	89	95	AF321477.1	<i>O. canarii</i>
	<i>O. canarii</i>	88	95	AF321479.1	
1540	<i>T. lactinea</i>	99	99	JX082369.1	<i>Trametes</i> sp.
	<i>T. lactinea</i>	99	99	JX082368.1	
	<i>T. cubensis</i>	99	99	JN164989.1	
	<i>T. cubensis</i>	99	99	JN164923.1	
1552	<i>Earliella scabrosa</i>	99	100	JN165008.1	<i>E. scabrosa</i>
	<i>E. scabrosa</i>	99	100	JN165009.1	
	<i>E. scabrosa</i>	99	100	JN164992.1	
	<i>E. scabrosa</i>	93	100	JX082364.1	

Após consulta ao *GenBank*, algumas espécies ainda não puderam ser determinadas, tendo em vista que a submissão de uma única sequência de nucleotídeos obteve valores de identidade altos para mais de uma espécie. Por isso, estes fungos foram identificados apenas em nível de gênero (Tabela 4). Além disso, o fungo 347 não pôde ser identificado devido ao baixo percentual de identidade, sendo assim, este foi classificado como Basidiomycete. Para que a identificação molecular possa determinar a espécie destes fungos, será necessário trabalhar com outros *primers*. O artigo de White et al. (1990) inclui *primers* universais amplamente utilizados para a amplificação de três componentes principais do óperon ribossomal fúngico: a subunidade grande (LSU), a subunidade pequena (SSU), a qual é separada pelo ITS, compreendendo duas seções (ITS1 e ITS2) (Figura 10).

A identificação molecular de fungos geralmente é feita utilizando-se os *primers* amplificadores da região ITS (SEIFERT, 2009). Contudo, alguns grupos de pesquisas utilizaram os *primers* para região LSU na identificação de basidiomicetos (RUNGJINDAMAI et al., 2008; SINGH et al., 2013).

Com o surgimento das técnicas moleculares baseadas em DNA, várias técnicas moleculares incluindo têm sido utilizadas para validar espécies de cogumelos como SSR, RAPD, AFLP, as sequências de rRNA SSU mitocondrial e os genes da citocromo-oxidase (AVIN et al., 2014).

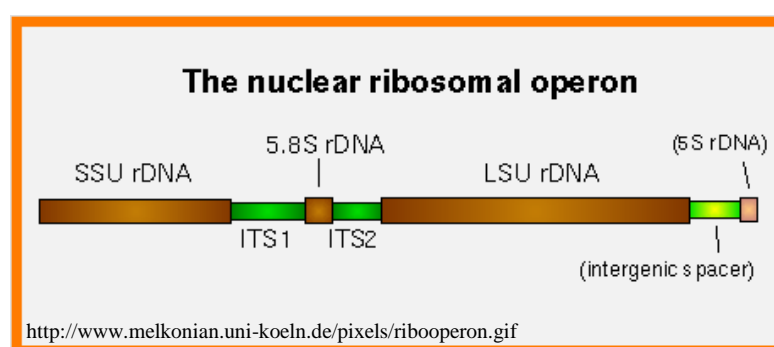


Figura 10 – Óperon ribossomal fúngico indicando a região de anelamento dos diferentes *primers* que podem ser utilizados na identificação molecular

5.2 Atividade antimicrobiana

5.2.1 Filtrados

Dos filtrados testados, sete inibiram o crescimento de *C. albicans* CFAM 1342 (Figura 11), todos obtidos a partir do cultivo de *Oudemansiella canarii* 1528 (Tabela 5).

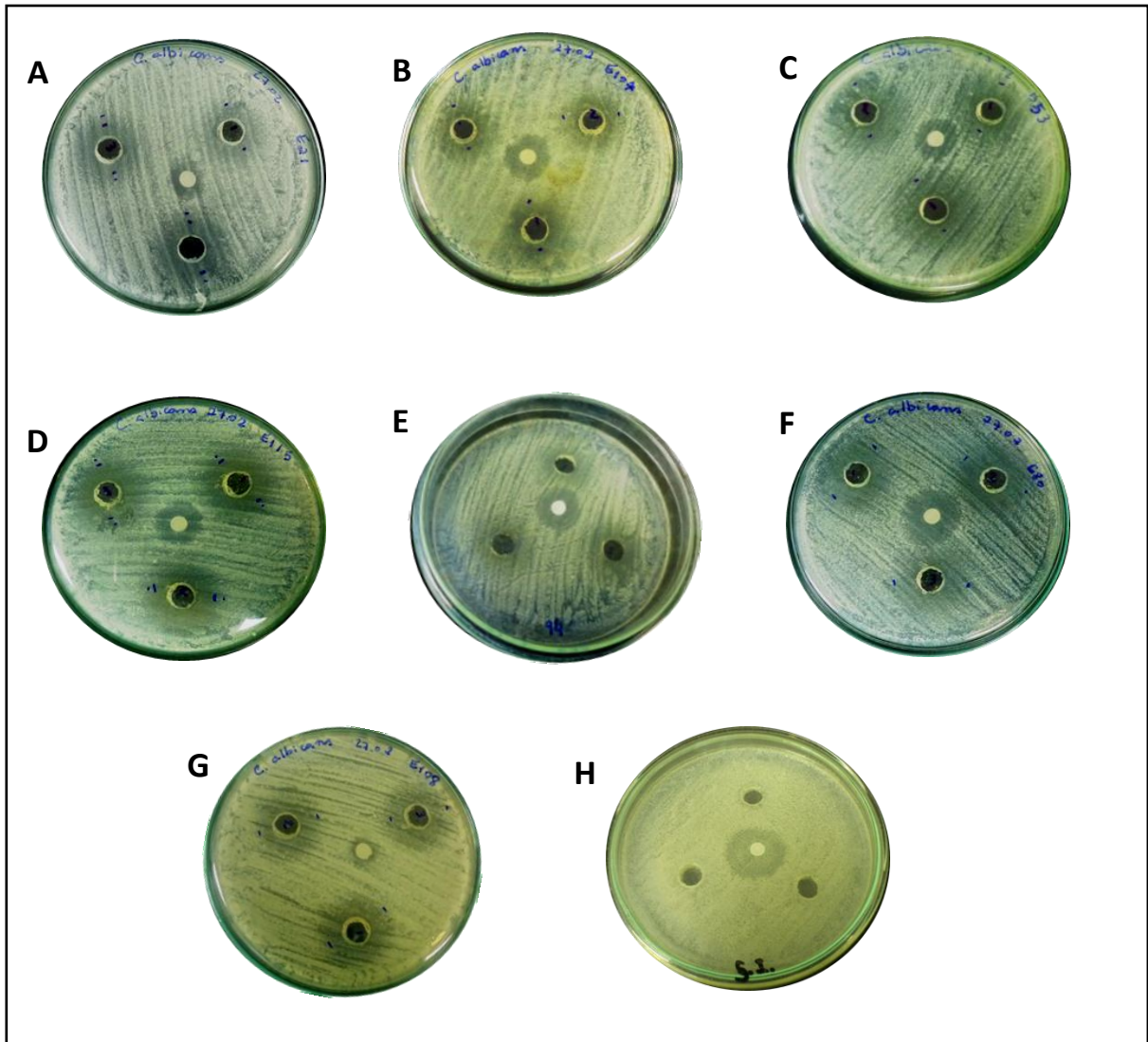


Figura 11 – Halos de inibição contra *C. albicans* CFAM 1342 dos filtrados obtidos do cultivo de *Oudemansiella canarii* 1528. Meio malte: A – sete dias, B – 49 dias; Meio GLP: C - 21 dias; D - 28 dias; E - 35 dias; F - 42 dias; G - 49 dias. H – filtrado sem atividade antifúngica. Controle positivo: disco com itraconazol (5 mg/mL) no centro das placas.

Na figura 11 pode ser visualizada a ação inibitória dos filtrados contra o patógeno *C. albicans* CFAM 1342, assim como o controle positivo no centro das placas. Na foto H, o filtrado testado não inibiu o patógeno e este cresceu por toda a extensão da placa, exceto ao redor do disco controle. Dessa forma, foi possível comparar a presença e ausência de ação inibitória dos diferentes filtrados.

Tabela 5 - Atividade antifúngica dos filtrados de *Oudemansiella canarii* 1528 contra *Candida albicans* CFAM 1342, após crescimento em diferentes meios de cultivo e períodos de incubação

Meios de cultivo	Períodos de incubação (dias)								
	7	14	21	28	35	42	49	56	63
	-----Diâmetros dos halos de inibição (mm) -----								
Malte	7,0	0,0*	0,0*	0,0*	0,0*	0,0*	5,5	0,0*	0,0*
GLP	0,0*	0,0*	8,7	8,3	6,2	8,5	7,0	0,0*	0,0*

* Sem halo de inibição aparente (visível)

Na tabela 5, pode-se observar que aos sete dias de crescimento em meio malte, *O. canarii* 1528 produziu compostos capazes de inibir o crescimento de *C. albicans* CFAM 1342, o que não foi possível quando este basidiomiceto foi cultivado em meio GLP pelo mesmo período de tempo. Entretanto, a atividade antifúngica dos filtrados provenientes do cultivo em meio malte não foi mais detectada nos tratamentos seguintes, voltando a ser detectada apenas aos 49 dias. Outra característica observada é que nos períodos de 56 e 63 dias não houve produção de antimicrobianos em nenhum dos meios utilizados.

Na mesma tabela é possível notar que o cultivo deste fungo em meio GLP produziu filtrados com atividade antifúngica num período diferente de incubação. Neste meio, foram necessários 21 dias de incubação para que *O. canarii* 1528 iniciasse a produção de compostos antifúngicos, o que a primeira vista parece ser uma desvantagem em relação ao meio malte. Porém, a produção destes compostos ocorreu por um período de incubação mais longo, entre 21 e 49 dias, indicando que a constituição do meio de cultivo pode ter interferido na produção desses compostos antifúngicos. Carvalho (2007) avaliou a influência de diferentes meios de cultivo quanto a produção de biomassa e antimicrobianos dos fungos *L. edodes*, *L. crinitus*, *Amauroderma* sp. e *P. sanguineus*. Este autor observou que não existe um meio ideal para todas as espécies produzirem antimicrobianos, tendo em vista que os resultados dos testes variaram de acordo com o meio de cultivo estudado e o patógeno testado. Além disso, os autores concluíram que a produção de biomassa parece não ter relação com a síntese de antimicrobianos.

A ordem Agaricales é extensa e diversificada e inclui os fungos popularmente conhecidos como cogumelos. Para o Brasil, são citados 136 gêneros e 1.011 espécies, de acordo com um levantamento da produção científica referente aos anos 1900-1991 realizado por Putzke (1994). Em relação à Amazônia, o número de trabalhos é bastante reduzido e

menos abrangente, necessitando de coletas e trabalho básico para o conhecimento das espécies desta região (PUTZKE, 2011).

Através de análise molecular foi possível determinar a espécie do fungo 1528 (anteriormente classificado como Agaricales), tratando-se de *Oudemansiella canarii* (Figura 12). Espécies de *Oudemansiella* são conhecidas por produzirem os compostos bioativos estrobilurinas e oudemansinas, os quais são capazes de inibir o crescimento de outros fungos mesmo em baixas concentrações (10^{-8} - 10^{-7} M). Estes compostos matam patógenos oportunistas como *C. albicans* e dermatófitos pertencentes ao gênero *Trichophyton*, *Epidermophyton* e *Microsporum* (ANKE et al., 1979; 1997). Além de inibir patógenos humanos, os compostos antifúngicos de *O. canarii* impediram o crescimento micelial e germinação de conídios dos fitopatógenos *Alternaria solani*, *Colletotrichum acutatum* e *Sclerotium rolfsii* (DOMINGUES et al., 2011).

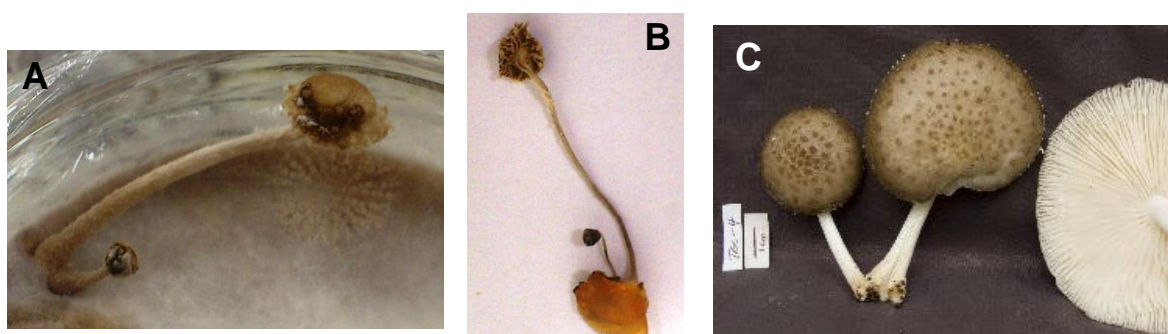


Figura 12 – Corpos de frutificação de *Oudemansiella canarii*. A-B: frutificação em placa de Petri, após retiradas de inóculos e exposição à luz; C: foto retirada da internet (http://www.boldsystems.org/index.php/Taxbrowser_Taxonpage?taxon=Oudemansiella%20canarii)

Um *screening* realizado por Rosa et al. (2003) detectou um amplo espectro de atividade antifúngica de uma linhagem de *O. canarii*, a qual produziu compostos inibidores de *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. krusei* e *C. tropicalis*. Este foi o primeiro relato de atividade antifúngica para esta espécie, contudo, os autores sugeriram que esta atividade está relacionada à presença de estrobilurinas e oudemansinas. Para confirmar esta teoria, Rosa et al. (2005) avaliaram a atividade antifúngica de extratos e compostos isolados a partir deste fungo contra o patógeno *Cladosporium sphaerospermum*. Assim, determinaram que o composto oudemansina A foi o responsável pela atividade antifúngica apresentada contra este patógeno.

A ocorrência de oudemansina A em *O. canarii* sugere que espécies pertencentes a este gênero possivelmente possam compartilhar uma maquinaria bioquímica comum para

produzir compostos antifúngicos, que lhes conferem uma vantagem estratégica em um ambiente extremamente competitivo (ROSA et al., 2005).

5.2.1.1 Concentração inibitória mínima (CIM)

Foi realizado o teste de microdiluição dos filtrados cuja atividade antimicrobiana foi encontrada no teste de difusão a fim de identificar a menor concentração capaz de inibir o crescimento de *C. albicans* CFAM 1342. Assim, o teste foi realizado com sete filtrados obtidos do cultivo de *O. canarii* 1528 em meio líquido.

Dentre os filtrados, apenas dois foram capazes de inibir o patógeno na concentração testada. O restante dos filtrados apresentou CIM em concentrações superiores a 5 mg/mL, sendo necessária a repetição deste teste com concentrações mais altas (Tabela 6).

Tabela 6 – Resultado do teste de microdiluição para identificação da concentração inibitória mínima dos filtrados de *Oudemansiella canarii* 1552 contra *Candida albicans* CFAM 1342

Filtrado	Concentração Inibitória Mínima (mg/mL)	Ação do filtrado
M1 T7	>5	-
M1 T49	>5	-
M2 T21	>5	-
M2 T28	2,5	Fungistática
M2 T35	>5	-
M2 T42	>5	-
M2 T49	5	Fungistática

*M1: meio malte; M2: meio GLP; T: número de dias de incubação

Os resultados da avaliação da CIM sugerem que o tempo de cultivo ideal para a produção de compostos antifúngicos é aproximadamente 28 dias, sendo o meio de cultivo GLP ideal para esta finalidade. Apesar de ter sido comprovado em teste de difusão que o fungo *O. canarii* 1528 sintetizou compostos inibidores de *C. albicans* CFAM 1342 aos sete dias de crescimento em meio malte, através de teste quantitativo (microdiluição) pôde-se notar que a concentração de antifúngicos neste filtrado é mais baixa. Apesar desta diferença, tanto o filtrado obtido aos 28 dias, como o obtido aos 49 dias apresentaram ação fungistática contra o patógeno (Tabela 6).

A maioria dos trabalhos publicados expõe a CIM de extratos de basidiomicetos contra patógenos bacterianos. Contudo, alguns trabalhos identificaram a CIM contra *C. albicans* e demonstraram resultados semelhantes com os do presente trabalho.

Entre os basidiomicetos pertencentes à Ordem Agaricales, *A. rubescens* teve sua CIM contra *C. albicans* conhecida pelo método de microdiluição, sendo de 5 mg/mL (KOSANIC et al., 2013); Nwachukwu e Uzoeto (2011) analisaram extratos de *P. squarrosulus* e encontraram CIM de 50 mg/mL; Vahidi e Namjoyan (2004) trabalharam com extratos do cultivo em meio líquido de *Oudemansiella* sp. e obtiveram CIM de 40 µg/µL.

Algumas espécies pertencentes a outras Ordens também tiveram sua CIM identificada. Kosanic et al. (2013) testaram extratos obtidos com acetona e metanol de *Cantharellus cibarius*, *Lactarius piperatus* e *R. cyanoxantha* pelo método de microdiluição contra *C. albicans*, e observou que os valores da CIM foram menores nos extratos de acetona, sendo 5,0, 2,5 e 5,0 mg/mL, respectivamente, enquanto os extratos metanólicos foram 10,0, 5,0 e 10,0 mg/mL, respectivamente.

5.2.2 Extratos

Um total de 16 extratos (oito obtidos a partir do cultivo dos fungos com exposição à luz ambiente e oito sem exposição) foi testado quanto a sua ação antimicrobiana, através do método de difusão em ágar. Dos fungos estudados, apenas *Schizophyllum commune* 1210 não inibiu nenhum dos patógenos. Além disso, nenhum dos extratos inibiu o crescimento de *A. niger* CFAM 161 (Tabela 7).

Tabela 7 - Atividade antimicrobiana de extratos do cultivo de basidiomicetos em meio ágar malte

Identificação	Condição	Diâmetro dos halos de inibição (mm)				
		Ec	Sa	Ca	An	P
Basidiomycete 347	L	1,7	0,0*	3,0	0,0*	0,0*
	E	1,7	0,0*	3,5	0,0*	0,0*
<i>Pleurotus</i> sp. 474	L	2,0	0,0*	3,8	0,0*	0,0*
	E	2,3	3,5	3,1	0,0*	0,0*
<i>Gloeophyllum</i> sp. 1153	L	0,0*	3,3	3,8	0,0*	0,0*
	E	2,0	3,2	3,1	0,0*	0,0*
<i>Schizophyllum commune</i> 1210	L	0,0*	0,0*	0,0*	0,0*	0,0*
	E	0,0*	0,0*	0,0*	0,0*	0,0*
<i>Trametes</i> sp. 1232	L	0,0*	0,0*	0,0*	0,0*	0,0*
	E	1,7	0,0*	0,0*	0,0*	0,0*
<i>Oudemansiella canarii</i> 1528	L	0,0*	0,0*	3,8	0,0*	3,7
	E	2,3	0,0*	4,6	0,0*	3,7

<i>Trametes</i> sp. 1540	L	0,0*	0,0*	3,5	0,0*	0,0*
	E	0,0*	0,0*	4,2	0,0*	0,0*
<i>Earliella scabrosa</i> 1552	L	1,5	0,0*	2,9	0,0*	0,0*
	E	2,0	0,0*	0,0*	0,0*	0,0*

Condições: L – expostos à luz ambiente; E: cultivado na ausência de luz

Ec: *Escherichia coli* CBAM 001; Sa: *Staphylococcus aureus* CBAM 324; Ca: *Candida albicans* CFAM 1342; An: *Aspergillus niger* CFAM 161; P: *Penicillium* sp. CFAM 059

*Sem halo de inibição aparente (visível)

Segundo Stadler e Keller (2008), mais de 1.500 metabólitos fúngicos, caracterizados entre 1993 e 2001, apresentaram atividade antibiótica ou antitumoral. Hoje este número deve ser superior, pois, desde então, muitos outros trabalhos foram sendo realizados e novos compostos isolados. Desta forma, os fungos são considerados fontes promissoras na busca de novas moléculas antimicrobianas, o que pôde ser confirmado com os resultados obtidos no presente trabalho.

Dos fungos testados, 75% produziram compostos com atividade anti-*Candida* (Tabela 7). Nesta metodologia, *O. canarii* 1528 novamente apresentou inibição contra *C. albicans* CFAM 1342, assim como no cultivo em meio líquido. Porém, os extratos do cultivo em meio sólido mostraram-se efetivos contra um maior número de microorganismos, passando a inibir *E. coli* CBAM 001 e *Penicillium* sp. CFAM 059, e, no caso deste último, *O. canarii* 1528 foi o único basidiomiceto cujos extratos inibiram este patógeno. Outra característica desta linhagem é a não especificidade quanto à presença ou ausência de luz durante a incubação para a produção de compostos antifúngicos. Contudo, somente o extrato do cultivo na ausência de luz apresentou atividade antibiótica contra *E. coli* CBAM 001.

As características de inibição dos extratos de *O. canarii* 1528 contra *C. albicans* CFAM 1342 foram diferentes para cada condição de cultivo. Os halos formados pelo extrato do cultivo com exposição à luz foram menores (3,8 mm) em comparação aos halos provenientes do cultivo deste fungo em ausência de luz (4,6 mm) (Figura 13). Porém, é importante ressaltar que o tamanho dos halos não depende apenas da concentração e intensidade de ação do composto antifúngico contra o patógeno, mas também, do seu peso molecular e outras características, responsáveis pela dispersão na placa de Petri. Por conta disso, são necessários estudos complementares para determinar se os extratos possuem compostos antifúngicos distintos.

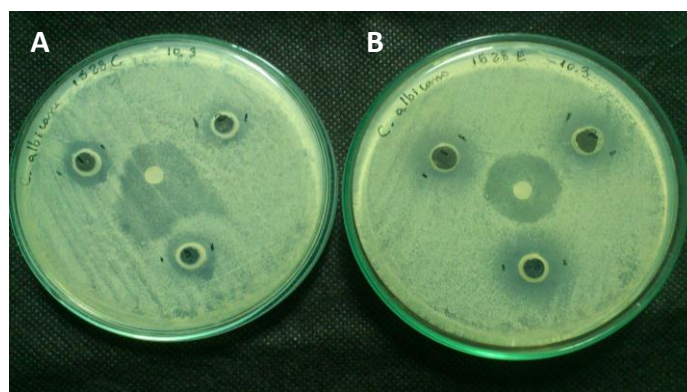


Figura 13 – Extratos inibidores de *Candida albicans* CFAM 1342 obtidos do cultivo de *Oudemansiella canarii* 1528 em meio sólido, com exposição à luz (A) e sem exposição à luz (B)

Vahidi e Namjoyan (2004) testaram extratos de *Oudemansiella* sp. contra patógenos bacterianos e fúngicos através do método de difusão em ágar e observaram que este fungo foi capaz de produzir compostos inibidores de *S. aureus*, *S. epidermidis*, *E. coli*, *M. luteus*, *C. albicans*, *S. cerevisiae* e *C. lipolytica*.

Assim como o extrato obtido do cultivo de *O. canarii* 1528, o extrato de *Trametes* sp.1232 apresentou atividade antibacteriana contra *E. coli* CBAM 001 somente quando cultivado na ausência de luz. Em contrapartida, os extratos de *Trametes* sp. 1540 não inibiram os patógenos bacterianos e foram eficazes no controle de *C. albicans* 1342.

O fungo *E. scabrosa* 1552, que também pode ser chamado de *Trametes scabrosa*, apresentou atividade antimicrobiana contra *E. coli* CBAM 001 nas duas condições de luminosidade e contra *C. albicans* CFAM 1342 somente quando incubado com exposição à luz. Não há relatos na literatura quanto à atividade antimicrobiana para esta espécie contra patógenos humanos. Contudo, Peng e Don (2013) relataram a capacidade deste fungo em produzir compostos bioativos inibidores dos fungos degradadores da seringueira *S. commune*, *P. sanguineus*, *Lentinus* sp., *L. sajor-caju*, *L. strigosus*, *Microporus affinis* e *M. xanthopus*.

Alguns pesquisadores investigaram a ação antimicrobiana de extratos de várias espécies do gênero *Trametes*. Yamaç e Bilgili (2006) analisaram os extratos de *T. versicolor* obtidos com acetato de etila a partir do seu basidiocarpo, obtendo a inibição dos patógenos *Enterobacter aerogenes*, *P. aeruginosa*, *S. aureus* e *Saccharomyces cerevisiae*. Apesar disso, seus extratos não inibiram o crescimento de *C. albicans*. Sivaprakasam et al. (2011) trabalharam com extratos da espécie *T. hirsuta*, e identificaram que esta é capaz de inibir diversos patógenos bacterianos, tanto Gram positivos, como Gram negativos, assim como os fungos *Penicillium* sp., *A. fumigatus*, *A. niger*, *A. flavus* e *Mucor indicus*. Outro parâmetro

avaliado por estes pesquisadores foi a diferença de ação inibitória entre extratos aquosos e extratos metanólicos, testando três concentrações (50, 100 e 200 mg/mL) de cada um deles. Todos os extratos foram capazes de inibir todos os patógenos, com algumas diferenças nos tamanhos dos halos. Apenas o extrato aquoso na concentração de 50 mg/mL não foi capaz de inibir *A. fumigatus*, *A. niger* e *M. indicus*.

As espécies do gênero *Pleurotus* têm sido amplamente estudadas quanto à produção de compostos antimicrobianos. Na Tabela 7, observa-se que *Pleurotus* sp. 474 inibiu o crescimento de *S. aureus* CBAM 324 (Figura 13), *E. coli* CBAM 001 e *C. albicans* CFAM 1342. A atividade antibiótica contra *S. aureus* e outras bactérias patogênicas já é relatada na literatura para este gênero, contudo, a maioria dos trabalhos utiliza extratos obtidos a partir de seus basidiocarpos (AKYUZ; KIRBAG, 2009; ETIM et al., 2012; GIRI et al., 2012). Ainda que vários trabalhos utilizem a mesma espécie de fungo, os resultados não podem ser previstos, pois mesmo em nível de espécie existem importantes diferenças genéticas que podem influenciar na capacidade de produzir antimicrobianos. Isto pode ser observado no trabalho de Akyuz et al. (2010), onde foram obtidos extratos do basidiocarpo de quatro espécimes de *P. ostreatus* e, destes, apenas dois foram capazes de inibir o crescimento de *S. aureus*.

Em relação à atividade anti-Candida, alguns trabalhos relatam a ausência de inibição deste patógeno quando utilizados extratos do basidiocarpo de *P. ostreatus* obtidos com metanol e álcool metílico (AKYUZ et al., 2010; GIRI et al., 2012). Contudo, a espécie *P. eryngii* var. *ferulae* cultivada em resíduos de palha de trigo inibiu *C. albicans* pelo método de disco difusão (AKYUZ; KIRBAG, 2009). Nwachukwu e Uzoeto (2011) testaram extratos etanólicos obtidos a partir do basidiocarpo de *P. squarrosolus* e obtiveram halos de inibição de 7,1 mm contra *C. albicans*. E, a partir de extratos etanólicos de *P. flabellatus*, Rai et al. (2013) também encontraram extratos com ação inibitória contra este patógeno.

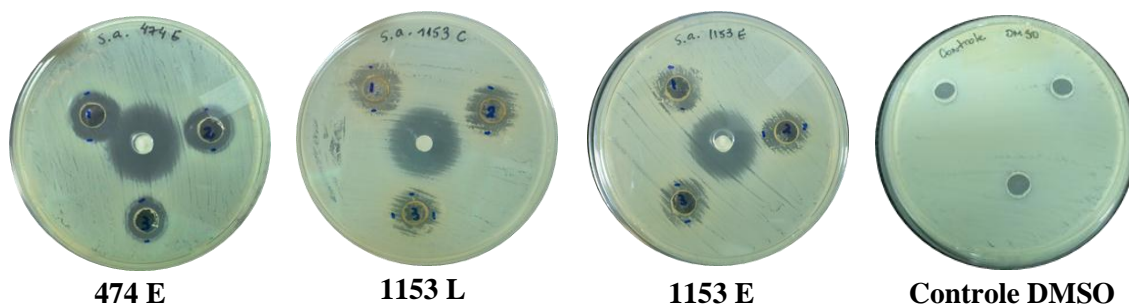


Figura 14 – Extratos de *Pleurotus* sp. 474 e *Gloeophyllum* sp. 1153 com ação antibiótica contra *Staphylococcus aureus* CBAM 324

Outro basidiomiceto inibidor de *S. aureus* CBAM 324 foi o fungo *Gloeophyllum* sp. 1153 (Figura 14). Além da ação antibiótica, seus extratos mostraram ação antifúngica contra *C. albicans* CFAM 1342 (Tabela 7). A atividade antibacteriana e antifúngica deste gênero foi relatada por Rasser, Anke e Sterner (2000), onde compostos isolados de espécies de *Gloeophyllum* sp. inibiram *B. subtilis*, *B. brevis*, *Mucor miehei* e *P. notatum*. Anteriormente, o antifúngico oosponol foi isolado de *G. abietinum* (UMEZAWA et al., 1972). As espécies pertencentes a este gênero ainda precisam ser estudadas mais detalhadamente, pois fungos com características biotecnológicas promissoras podem estar sendo ineficientemente explorados.

As culturas utilizadas neste trabalho não haviam sido testadas anteriormente quanto à produção de antimicrobianos, por isso foram submetidas a diferentes condições de incubação, já que não havia informações prévias sobre possíveis especificidades para produção destes compostos. E, ainda que tenham sido verificadas diferenças significativas nas diferentes metodologias testadas, é importante a realização de trabalhos complementares para que sejam avaliadas novas condições de cultivo e métodos de extração dos compostos antimicrobianos.

Através do levantamento de revisão bibliográfica, foi observado que a parte do fungo escolhida para extração (basidiocarpo inteiro ou partes deste) influencia diretamente nos resultados. Isto pôde ser notado no trabalho de Barros et al. (2007), onde diversos extratos do fungo *Lactarius deliciosus* foram testados contra *C. albicans*. Os extratos preparados a partir do basidiocarpo completo ou do píleo (chapéu) foram eficazes contra o patógeno, enquanto os extratos obtidos a partir do estipe não apresentaram atividade antimicrobiana. Os autores associaram esta atividade com a quantidade de compostos fenólicos e flavonóides presentes neste fungo, que foram encontradas em menor concentração no estipe do cogumelo. Igualmente, a fase de ciclo de vida influencia na produção de metabólitos secundários. O fungo *M. tremellosus* em sua fase de vida micelial produz o antifúngico merulidial, enquanto seu basidiocarpo produz os antibacterianos ácidos merulínicos A, B e C (ZJAWIONY, 2004).

6 CONCLUSÕES

Com a amplificação da região do rDNA dos basidiomicetos foi possível identificar os isolados 1210, 1528 e 1552 a nível de espécie, sendo *Schizophyllum commune*, *Oudemansiella canarii* e *Earliella scabrosa*, respectivamente. Os isolados 474, 1153, 1232 e 1540 foram identificaos a nível de gênero, sendo *Pleurotus* sp., *Gloeophyllum* sp., *Trametes* sp. e *Trametes* sp., respectivamente. O isolado 347 não foi identificado devido ao baixo valor de identidade para a espécie *S. commune*, sendo necessário a utilização de outros *primers*.

Os fungos Basidiomycete 347, *Pleurotus* sp. 474, *Gloeophyllum* sp. 1153, *Trametes* sp. 1232, *Oudemansiella canarii* 1528, *Trametes* sp. 1540 e *Earliella scabrosa* 1552 apresentaram atividade antimicrobiana quando cultivados em meio sólido malte ágar e submetidos a extração com acetato de etila. Além disso, quando cultivado em meio líquido, *O. canarii* 1528 produziu antifúngicos inibidores de *Candida albicans* CFAM 1342.

O fungo *O. canarii* 1528 produziu antifúngicos em meio líquido e meio sólido. Por isso, este foi considerado o melhor produtor de antifúngicos, principalmente pela vantagem deste excretar estes compostos em meio líquido, facilitando o processo de extração.

A exposição à luz durante o crescimento interferiu negativamente na capacidade de produção de compostos antibacterianos de *Pleurotus* sp. 474, *Gloeophyllum* sp. 1153, *Trametes* sp. 1232 e *O. canarii* 1528, e na produção de antifúngicos por *E. scabrosa* 1552.

A concentração inibitória mínima foi identificada para dois filtrados de *O. canarii* 1528 contra *C. albicans* CFAM 1342, sendo de 5 mg/mL para o filtrado obtido aos 49 dias e 2,5 mg/mL para o filtrado obtido aos 28 dias, ambos em meio GLP. Assim, observou-se que este fungo produz concentrações mais altas em meio GLP do que em meio malte.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACEVEDO, F.; PIZZUL, L.; CASTILLO, M. D.; GONZALES, M. E.; CEA, M.; GIANFREDA, L.; DIEZ, M. C. Degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons by the Chilean white-rot fungus *Anthracophyllum discolor*. **Journal of Hazardous Materials**, v. 185, n. 1, p. 212-219, 2011.

AL-DBASS, A. M.; AL- DAIHAN, S. K.; BHAT, R. S. *Agaricus blazei* Murill as an efficient hepatoprotective and antioxidant agent against CCl₄-induced liver injury in rats. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 19, n. 3, p. 303-309, 2012.

ALEXOPOULOS, C. J.; MIMS, C. W.; BLACKWELL, M. **Introductory Mycology**. 4 ed. New York: John Wiley & Sons, Inc., 1996.

ALVES, M. J.; FERREIRA, I. C. F. R.; DIAS, J.; TEIXEIRA, V.; MARTINS, A.; PINTADO, M. A review on antimicrobial activity of mushroom (Basidiomycetes) extracts and isolated compounds. **Planta Medica**, v. 78, n. 16, p. 1707-1718, 2012.

ALVES, M. J.; FERREIRA, I. C. F. R.; DIAS, J.; TEIXEIRA, V.; MARTINS, A.; PINTADO, M. A review on antifungal activity of mushroom (Basidiomycetes) extracts and isolated compounds. **Current Topics in Medicinal Chemistry**, v. 13, n. 21, p. 2648-2659, 2013.

Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Altargo pomada Modelo de texto de bula, 2013. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/datavisa/fila_bula/frmVisualizarBula.asp?pNuTransacao=2534362013&pIdAnexo=1556143>. Acesso em: 14 abr. 2014.

AKYUZ, M.; KIRBAG, S. Antimicrobial activity of *Pleurotus eryngii* var. *ferulae* grown on various agro-wastes. **EurAsian Journal of BioSciences**, v. 3, p. 58-63, 2009.

AKYUZ, M.; ONGANER, A. M.; ERECEVIT, P.; KIRBAG, S. Antimicrobial Activity of some Edible Mushrooms in the Eastern and Southeast Anatolia Region of Turkey. **Gazi University Journal of Science**, v. 23, n. 2, p. 125-140, 2010.

ANKE, T.; HECHT, H. T.; SCHRAMM, G.; STREGLICH, W. Antibiotics from basidiomycetes. IX. Oudemansin, an antifungal antibiotic from *Oudemansiella mucida* (Schrader ex Fr.) Hoehnel (Agaricales). **The Journal of Antibiotics**, v. 32, p. 1112-1117, 1979.

ANKE, T. Strobilurins. In: ANKE, T. **Fungal Biotechnology**, Chapman & Hall, London, p. 206-212, 1997.

ATHAYDE, M. M. S. **Citotoxicidade e atividade antimicrobiana de extratos de duas cepas do fungo *Pycnoporus sanguineus* oriundas da Amazônia**. 2011. 40 f. Tese (Doutorado em Odontologia) – Faculdade de Odontologia de Piracicaba, Piracicaba, 2011.

AVIN, F. A.; BHASSU, S.; TAN, Y. S.; SHAHBAZI, P.; VIKINESWARY, S. Molecular Divergence and Species Delimitation of the Cultivated Oyster Mushrooms: Integration of IGS1 and ITS. **The Scientific World Journal**, v. 2014, p. 1-10, 2014.

AYODELE, S. M.; IDOKO, M. E. Antimicrobial activities of four wild edible mushrooms in Nigeria. **International Journal of Science and Nature**, v. 2, n. 1, p. 55-58, 2011.

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

BALLAMINUT, N.; MATHEUS, D. R. Characterization of fungal inoculum used in soil bioremediation. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 38, n. 2, p. 248-252, 2007.

BARROS, L.; CALHELHA, R. C.; VAZ, J. A.; FERREIRA, I. C. F. R.; BAPTISTA, P.; ESTEVINHO, L. M. Antimicrobial activity and bioactive compounds of Portuguese wild edible mushrooms methanolic extracts. **European Food Research and Technology**, v. 225, n. 2, p. 151-156, 2007.

BEKAI, L. H. **Atividade antibiótica do fungo *Antrodia albida* (Fr.) Donk. cultivado em laboratório**. 2010. 68 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2010.

BENDER, S.; DUMITRACHE-ANGHEL, C. N.; BACKHAUS, J.; CHRISTIE, G.; CROSS, R. F.; LONERGAN, G. T.; BAKER, W. L. A case for caution in assessing the antibiotic activity of extracts of culinary-medicinal Shiitake mushroom [*Lentinus edodes* (Berk.) Singer] (*Agaricomycetidae*). **International Journal of Medicinal Mushrooms**, Washington, v. 5, p. 31-35, 2003.

BONONI, V. L. R.; GRANDI, R. A. P. **Zigomicetos, Basidiomicetos e Deuteromicetos: noções básicas de taxonomia e aplicações biotecnológicas**. São Paulo: Instituto de botânica, Secretaria do Meio Ambiente, 1998.

BONONI, V. L.; CAPELARI, M.; MAZIERO, R.; TRUFEM, S. F. B. **Cultivo de cogumelos comestíveis**. 2. ed. São Paulo: Ícone, 1999.

BORGUINI, R. G.; TORRES, E.F.S. Tomatoes and tomato products as dietary sources of antioxidants. **Food Review International**, v. 25, n. 4, p. 313-25, 2006.

BOSSE, A. K.; FRAATZ, M. A.; ZORN, H. Formation of complex natural flavours by biotransformation of apple pomace with basidiomycetes. **Food Chemistry**, v. 141, n. 3, p. 2952-2959, 2013.

BUTLER, M. S.; BUSS, A. D. Natural products – the future scaffolds for novel antibiotics? **Biochemical Pharmacology**, v. 71, n. 7, p. 919-929, 2006.

CANTORNA, M.; ZHU, Y.; FROICU, M.; WITTKE, A. Vitamin D status, 1,25 dihydroxyvitamin D3 and the immune system. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 80, n. 6, p. 1717–1720, 2004.

CARNEIRO, A. A. J.; FERREIRA, I. C. F. R.; DUENAS, M.; BARROS, L.; SILVA, R.; GOMES, E.; SANTOS-BUELGA, C. Chemical composition and antioxidant activity of dried powder formulations of *Agaricus blazei* and *Lentinus edodes*. **Food Chemistry**, v. 138, n. 4, p. 2168-2173, 2013.

CARVALHO, M. P. **Avaliação da Atividade Antimicrobiana dos Basidiomicetos *Lentinula edodes*, *Lentinus crinitus*, *Amauroderma sp.* e *Pycnoporus sanguineus***. 2007. 93 f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola e Ambiente) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2007.

CASARIL, K. B. P. B.; KASUYA, M. C.; VANETTI, M. C. D. Antimicrobial activity and mineral composition of shiitake mushrooms cultivated on agricultural waste. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 54, n. 5, p. 991-1002, 2011.

CHOI, S.; JANG, H. J.; CHOI, J. Y.; KIM, M. S.; LEE, Y. R.; KIM, H. S.; CHOI, S. W.; JEON, B. H.; WON, S. I.; KIM, T. W.; CHOI, J. W. Antioxidant and anticancer activity of fractions of the ethanol extract of *Naematoloma sublateritium*. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 6, n.7, p. 1344-1352, 2012.

CIRZ, R. T.; CHIN, J. K.; ANDES, D. R.; CRECY-LAGARD, V.; CRAIG, W. A.; ROMESBERG, F. E. Inhibition of mutation and combating the evolution of antibiotic resistance. **PLoS Biology**, v. 3, n. 6, p. 1024-1033, 2005.

DIAS, R. **Isolamento e caracterização do lentinan de cogumelos shiitake cultivados em Santa Catarina**. 2005. 80 f. Dissertação (Mestrado em Química Orgânica) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2005.

DOMINGUES, R. J.; YOUNG, M. C. M.; TOFOLI, J. G.; MATHEUS, D. R. Potencial antifúngico de extratos de plantas e de basidiomicetos nativos sobre *Colletotrichum acutatum*, *Alternaria solani* e *Sclerotium rolfsii*. **Summa Phytopathologica**, v. 37, n. 3, p. 149-151, 2011.

DUARTE, M. **Atividade anti-*Trichomonas vaginalis* de moléculas produzidas por basidiomicetos**. 2011. 117 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2011.

DUBOST, N.J.; OU, B.; BEELMAN, R.B. Quantification of polyphenols and ergothioneine in cultivated mushroom and correlation to total antioxidant capacity. **Food Chemistry**, v. 105 n. 2, p. 727-735, 2007.

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Recursos genéticos e biotecnologia. Brasil e China vão intensificar cooperação para aumentar a produção e consumo de cogumelos, 2006. Disponível em:

<<http://www.cenargen.embrapa.br/publica/trabalhos/fn2006/arquivos/atarde091006.pdf>>

Acesso em 16 nov. 2013.

ESPOSITO, E.; AZEVEDO, J. L. **Fungos: uma introdução à biologia, bioquímica e biotecnologia**. Caxias do Sul: Educs, 2004.

ETIM, E. E.; AKPAN, I. U.; EDET, E. J. Antimicrobial properties of common mushrooms in Nígeria. **International Journal of Modern Biology and Medicine**, v. 2, n. 2, p. 64-71, 2012.

FIDALGO, O. **Conhecimento micológico dos índios brasileiros**. São Paulo: Rickia, v. 2., 1965.

FURUYA, E. Y.; LOWY, F. D. Antimicrobial-resistant bacteria in the community setting. **Nature reviews in microbiology**, v. 4, n. 1, p.36-45, 2006.

GARCIA, F. F. **Biodegradação de 2,4 – Diclorofenol e 2,4,6 –triclorofenol por fungos do gênero *Pleurotus***. 2009. 80 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Processos) - Universidade da Região de Joinville, Joinville, 2009.

GETHA, K.; HATSU, M.; WONG, H. J.; LEE, S. S. Submerged cultivation of basidiomycete fungi associated with root diseases for production of valuable bioactive metabolites. **Journal of Tropical Forest Science**, v. 21, n. 1, p. 1-7, 2009.

GIRI, S.; BISWAS, G.; PRADHAN, P.; MANDAL, S. C.; ACHARYA, K. Antimicrobial Activities Of Basidiocarps Of Wild Edible Mushrooms Of West Bengal, India. **International Journal of PharmaTech Research**, v. 4, n. 4, p. 1554-1560, 2012.

GONÇALVES, C. C. M.; PAIVA, P. C. A.; DIAS, E. S.; SIQUEIRA, F. G.; HENRIQUE, F. Avaliação do cultivo de *Pleurotus sajor-caju* (Fries) Sing. sobre o resíduo de algodão da indústria têxtil para a produção de cogumelos e para alimentação animal. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 34, n. 1, p. 220-225, 2010.

GUERREIRO, R. T. **Glossário Ilustrado de Fungos: Termos e Conceitos Aplicados a Micologia**. 2 ed. Rio Grande do Sul: UFRGS, 2003.

GUGLIOTTA, A. M.; CAPELARI, M. Taxonomia de basidiomicetos. In: BONONI, V. L. R.; GRANDI, R. A. P. **Zigomicetos, Basidiomicetos e Deuteromicetos: Noções básicas de taxonomia e aplicações biotecnológicas**, São Paulo: Instituto de Botânica, Secretaria de Estado do Meio Ambiente, 1998, p. 69-102.

GUIMARAES, D. O.; MOMESSO, L. S.; PUPO, M. T. Antibióticos: importância terapêutica e perspectivas para a descoberta e desenvolvimento de novos agentes. **Química Nova**, v. 33, n. 3, p. 667-679, 2010.

HAKIME-SILVA, R. A.; VELLOSA, J. C.; KHALIL, N. M.; KHALIL, O. A.; BRUNETTI, I. L.; OLIVEIRA, O. M. Chemical, enzymatic and cellular antioxidant activity studies of *Agaricus blazei* Murrill. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 85, n. 3, p. 1073-1081, 2013.

HEARST, R.; NELSON, D.; MCCOLLUM, G.; MILLAR, B. C.; MAEDA, Y.; GOLDSMITH, C. E.; ROONEY, P. J.; LOUGHREY, A., RAO, J. R.; MOORE, J. E. An

examination of antibacterial and antifungal properties of constituents of Shiitake (*Lentinula edodes*) and Oyster (*Pleurotus ostreatus*) mushrooms. **Complementary therapies in clinical practice**, v. 15, n. 1, p. 5-7, 2009.

HEARST, M.; NELSON, D.; MCCOLLUM, G.; BALLARD, L. M.; MILLAR, B. C.; MOORE, S.; MCCLEAN, S.; MOORE, J. E.; RAO, J. R. Antimicrobial properties of protein extracts from wild mushroom fungi and native plant species against hospital pathogens. **Journal of Pharmacognosy and Phytotherapy**, v. 2, n. 8, p. 103-107, 2010.

HELENO, S. A.; STOJKOVIC, D.; BARROS, L.; GLAMOCLIIJA, J.; SOKOVIC, M.; MARTINS, A.; QUEIROZ, M. J. R. P.; FERREIRA, I. C. F. R. A comparative study of chemical composition, antioxidant and antimicrobial properties of *Morchella esculenta* (L.) Pers. from Portugal and Serbia. **Food Research International**, v. 51, n. 1, p. 236-243, 2013a.

HELENO, S. A.; FERREIRA, I. C. F. R.; ESTEVES, A. P.; CIRIC, A.; GLOAMOCLIIJA, J.; MARTINS, A.; SOKOVIC, M.; QUEIROZ, M. J. R. P. Antimicrobial and demelanizing activity of *Ganoderma lucidum* extract, p-hydroxybenzoic and cinnamic acids and their synthetic acetylated glucuronide methyl esters. **Food and Chemical Toxicology**, v. 58, p. 95-100, 2013b.

HERRERA, T.; ULLOA, M. **El reino de los hongos: Micología básica y aplicada**. Mexico: Universidad Nacional Autonoma de México, Fondo de Cultura Económica, 1990.

ISRAILIDES, C.; KLETSAS, D.; ARAPOGLOU, D.; PHILIPPOUSSIS, A.; PRATSINIS, H.; EBRINGEROVA, A.; HRÍBALOVA, V.; HARDING, S. E. *In vitro* cytostatic and immunomodulatory properties of the medicinal mushroom *Lentinula edodes*. **Phytomedicine**, v. 15, n. 6-7, p. 512-519, 2008.

KALOGEROPOULOS, N.; YANNI, A. E.; KOUTROTSIOS, G.; ALOUPI, M. Bioactive microconstituents and antioxidant properties of wild edible mushrooms from the island of Lesbos, Greece. **Food and Chemical Toxicology**, v. 55, p. 378-385, 2013.

KAWANISHI, T.; IKEDA-DANTSUJI, Y.; NAGAYAMA, A. Effects of two basidiomycete species on interleukin 1 and interleukin 2 production by macrophage and T cell lines. **Immunobiology**, v. 215, n. 7, p. 516-520, 2010.

KELLER, A. C.; MAILLARD, M. P.; HOSTETTMANN, K. Antimicrobial steroids from the fungus *Fomitopsis pinicola*. **Phytochemistry**, v. 41, n. 4, p. 1041-1046, 1996.

KELLER, N. P.; TURNER, G.; BENNETT, J. W. Fungal secondary metabolism – From biochemistry to genomics. **Nature Reviews – Microbiology**, v. 3, n. 12, p. 937-947, 2005.

KOFUJI, K.; AOKI, A.; TSUBAKI, K.; KONISHI, M.; TSOBE, T.; MURATA, Y. Antioxidant activity of β -glucan. **ISRN Pharmaceuticals**, v. 2012, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.5402/2012/125864>>. Acesso em: 27 ago. 2013.

KOSANIC, M.; RANKOVIC, B.; DASIC, M. Antioxidant and antimicrobial properties of mushrooms. **Bulgarian Journal of Agricultural Science**, v. 19, n. 5, p. 1040-1046, 2013.

KOZARSKI, M.; KLAUS, A.; NIKSIC, M.; VRVIC, M. M.; TODOROVIC, N.; JAKOVLJEVIĆ, D.; GRIENSVEN, L. J. L. D. Antioxidative activities and chemical characterization of polysaccharide extracts from the widely used mushrooms *Ganoderma applanatum*, *Ganoderma lucidum*, *Lentinus edodes* and *Trametes versicolor*. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 26, n. 1-2, p. 144-153, 2012.

LIMA, M. A. **Potencial biotecnológico de basidiomicetos isolados no Estado do Paraná**. 2009. 102 f. Dissertação (Mestrado em Processos Biotecnológicos) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2009.

LINDEQUIST, U.; NIEDERMEYER, T. H. J.; JULICH, W. D. The pharmacological potential of mushrooms. **eCam**, v. 2, n. 3, p. 285-289, 2005.

LIU, F. C.; LAI, M. T.; CHEN, Y. Y.; LIN, W. H.; CHANG, S. J.; SHEU, M. J.; WU, C. H. Elucidating the inhibitory mechanisms of the ethanolic extract of the fruiting body of the mushroom *Antrodia cinnamomea* on the proliferation and migration of murine leukemia WEHI-3 cells and their tumorigenicity in a BALB/c allograft tumor model. **Phytomedicine**, v. 20, n. 10, p. 874-882, 2013a.

LIU, K.; WANG, J.; ZHAO, L.; WANG, Q. Anticancer, antioxidant and antibiotic activities of mushroom *Ramaria flava*. **Food and Chemical Toxicology**, v. 58, p. 375-380, 2013b.

LULL, C.; WICHERS, H. J.; SAVELKOUL, H. F. J. Antiinflammatory and immunomodulating properties of fungal metabolites. **Mediators of Inflammation**, v. 2, p. 63-80, 2005.

LUZ, W. C. **Taxonomia de Basidiomicetos**: classes: Agaricomycetes, Dacryomycetes, Tremellomycetes, Phallomycetes. Passo Fundo: Revisão Anual de Patologia de Plantas, v. 1., 2008.

MA, K.; BAO, L.; HAN, J.; JIN, T.; YANG, X.; ZHAO, F.; LI, S.; SONG, F.; LIU, M.; LIU, H. New benzoate derivatives and hirsutane type sesquiterpenoids with antimicrobial activity and cytotoxicity from the solid-state fermented rice by the medicinal mushroom *Stereum hirsutum*. **Food Chemistry**, v. 143, p. 239-245, 2014.

MANOHARACHARY, C.; SRIDHAR, K.; SINGH, R.; ADHOLEYA, A.; SURYANARAYANAN, T. S.; RAWAT, S.; JOHRI, B. N. Fungal biodiversity: Distribution, conservation and prospecting of fungi from India. **Current Science**, v. 89, n. 1, p. 58-71, 2005.

MOGLAD, E. H. O.; SAADABI, A. M. Screening of antimicrobial activity of wild mushrooms from Khartoum State of Sudan. **Microbiology Journal**, v. 2, n. 2, p. 64-69, 2012.

MOTHANA, R. A. A.; JANSEN, R.; JULICH, W. D.; LINDEQUIST, U. Ganomycins A and B, new antimicrobial farnesyl hydroquinones from the basidiomycete *Ganoderma pfeifferi*. **Journal of Natural Products**, v. 63, p. 416-418, 2000.

MOURA, P. L. C. **Determinação de elementos essenciais e tóxicos em cogumelos comestíveis por análise por ativação com nêutrons**. 2008. 105 f. Dissertação (Mestrado

em Ciências) – Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.

MUHSIN, T. M.; AL-DUBOON, A. A.; KHALAF, K. T. Bioactive compounds from a polypore fungus *Ganoderma applanatum* (Per s. ex Wallr.) Pat. **Jordan Journal of Biological Sciences**, v. 4, n. 4, p. 205-212, 2011.

NANDI, A. K.; SAMANTA, S.; MAITY, S.; SEN, I. K.; KHATUA, S.; DEVI, K. S.; ACHARYA, K.; MAITI, T. K.; ISLAM, S. S. Antioxidant and immunostimulant β -glucan from edible mushroom *Russula albonigra* (Krombh.) Fr. **Carbohydrate Polymers**, v. 99, p. 774-782, 2014.

NEDELKOSKA, D. N.; PANCEVSKA, N. A.; AMEDI, H.; VELESKA, D.; IVANOVA, E.; KARADELEV, M.; KUNGULOVSKI, D. Screening of antibacterial and antifungal activities of selected Macedonian wild mushrooms. **Journal of Natural Science, Biology and Medicine**, n. 124, p. 333-340, 2013.

NIKITINA, V. E.; TSIVILEVA, O. M.; PANKRATOV, A. N.; BYCHKOV, N. A. *Lentinula edodes* biotechnology – From lentinan to lectins. **Food Technology and Biotechnology**, v. 45, n. 3, p. 230-237, 2007.

NWACHUKWU, E.; UZOETO, H. O. Antimicrobial activity of some local mushrooms on pathogenic isolates. **International Journal of Current Research**, v. 3, n. 6, p. 1-5, 2011.

OLIVEIRA, M. A.; DONEGA, M. A.; PERALTA, R. M.; SOUZA, C. G. M. Produção de inóculo do cogumelo comestível *Pleurotus pulmonarius* (Fr.) Quélet - CCB19 a partir de resíduos da agroindústria. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, p. 84-87, 2007.

OYETAYO, V. O. Free radical scavenging and antimicrobial properties of extracts of wild mushrooms. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 40, n. 2, p. 380-386, 2009.

PAPHITOU, N. I. Antimicrobial resistance: Action to combat the rising microbial challenges. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 42, p. 25-28, 2013.

PENG, T. Y.; DON, M. M. Antifungal Activity of In-vitro Grown *Earliella Scabrosa*, a Malaysian Fungus on Selected Wood-degrading Fungi of Rubberwood. **Journal of Physical Science**, v. 24, n. 2, p. 21-33, 2013.

PUTZKE, J. **Lista dos fungos Agaricales (Hymenomycetes, Basidiomycotina) referidos para o Brasil**. Caderno de Pesquisa Série Botânica, Universidade de Santa Cruz do Sul, v. 6, n. 2, p. 186, 1994.

PUTZKE, J.; PUTZKE, M. T. L. **Os reinos dos fungos**. Santa Cruz do Sul: EDUNISC, v. 1, 1998.

PUTZKE, J. Cogumelos Agaricales (*Sensu lato*) da Amazônia: Coleta e identificação. In: TEIXEIRA, M. F. S.; SILVA, T. A.; PALHETA, R. A.; CARNEIRO, A. L. B.; ATAYDE, H. M. **Fungos da Amazônia: uma riqueza inexplorada**. Manaus: EDUA, 2011, p. 45-52.

RAI, M.; SEN, S.; ACHARYA, K. Antimicrobial activity of four wild edible mushrooms from Darjeeling hills, West Bengal, India. **International Journal of PharmTech Research**, v. 5, n. 3, p. 949-956, 2013.

RASSER, F.; ANKE, T.; STERNER, O. Secondary metabolites from a *Gloeophyllum* species. **Phytochemistry**, v. 54, n. 5, p. 511-516, 2000.

REN, L.; PERERA, C.; HEMAR, Y. Antitumor activity of mushroom polysaccharides: A review. **Food & Function**, v. 3, n. 11, 2012.

RINCÃO, V.P.; YAMAMOTO, K. A.; RICARDO, N. M. P. S.; SOARES, S. A.; MEIRELLES, L. D. P.; NOZAWA, C.; LINHARES, R. E. C. Polysaccharide and extracts from *Lentinula edodes*: Structural features and antiviral activity. **Virology Journal**, v. 9, n. 37, p. 1-6, 2012.

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. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 98, n. 7, p. 967-974, 2003.

ROSA, L. H.; COTA, B. B.; MACHADO, K. M. G.; ROSA, C. A.; ZANI, C. L. Antifungal and other biological activities from *Oudemansiella canarii* (Basidiomycota). **World Journal of Microbiology & Biotechnology**, v. 21, n. 6-7, p. 983-987, 2005.

RUNGJINDAMAI, N.; PINRUAN, U.; CHOYEYKLIN, R.; HATTORI, T.; JONES, E.B.G. Molecular characterization of basidiomycetous endophytes isolated from leaves, rachis and petioles of the oil palm, *Elaeis guineensis*, in Thailand. **Fungal diversity**, v. 33, p. 139-161, 2008.

SALVI, M. B. **Otimização de biorremediação de solo contaminado com organoclorados utilizando basidiomicetos em biorreatores**. 2013. 189 f. Tese (Doutorado em Biodiversidade Vegetal e Meio Ambiente) - Instituto de Botânica da Secretaria do Meio Ambiente, São Paulo, 2013.

SANDVEN, P. Epidemiology of candidemia. **Revista Iberoamericana de Micologia**, v. 17, n. 3, p. 73-81, 2000.

SASIDHARAN, S.; ARAVINDRAN, S.; LATHA, L. Y.; VIJENTHI, R.; SARAVANAN, D.; AMUTHA, S. *In Vitro* antioxidant activity and hepatoprotective effects of *Lentinula edodes* against paracetamol-induced hepatotoxicity. **Molecules**, v. 15, n. 6, p. 4478-4489, 2010.

SEIFERT, K. A. Progress towards DNA barcoding of fungi. **Molecular ecology resources**, v. 9, n. 1, p. 83-89, 2009.

SILVA, A. C.; JORGE, N. Cogumelos: Compostos bioativos e propriedades antioxidantes. **UNOPAR Científica, Ciências biológicas e da saúde**, v. 13, p. 375-384, 2011.

SILVEIRA, V. D. **Micologia**. 5 ed. Rio de Janeiro: Âmbito Cultural Edições Ltda, 1995.

- SINGH, P. K.; KATHURIA, S.; AGARWAL, K.; GAUR, S. N.; MEIS, J. F.; CHOWDHARY, A. Clinical Significance and Molecular Characterization of Nonsporulating Molds Isolated from the Respiratory Tracts of Bronchopulmonary Mycosis Patients with Special Reference to Basidiomycetes. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 51, n. 10, p. 3331-3337, 2013.
- SIVAPRAKASAM, E.; KAVITHA, D.; BALAKUMAR, R.; SRIDHAR*, S.; KUMAR, J. S. Antimicrobial activity of whole fruiting bodies of *Trametes hirsuta* (Wulf. Fr.) Pil. against some common pathogenic bacteria and fungus. **International Journal of Pharmaceutical Sciences and Drug Research**, v. 3, n. 3, p. 219-221, 2011.
- SMANIA, A.; MONACHE, F. D.; SMANIA, E. F. A.; GIL, M. L.; BENCHETRIT, L. C.; CRUZ, F. S. . Antibacterial activity of a substance produced by the fungus *Pycnoporus sanguineus* (Fr.) Murr. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 45, p. 177-181, 1995.
- SMANIA, E. F. A.; SMANIA-JUNIOR, A.; LOGUERCIO-LEITE, C.; GIL, M. L. Optimal parameters for cinnabarin synthesis by *Pycnoporus sanguineus*. **Journal Chemistry Technology & Biotechnology**, v. 70, p. 57-59, 1997.
- SOUZA, C. M. C. O. **Produção de metabólitos com atividade antimicrobiana e antioxidante de *Lentinula edodes* em cultivo submerso**. 2009. 86 f. Dissertação (Mestrado em Processos Biotecnológicos) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2009.
- SRIVASTAVA, M. P.; SHARMA, N. Antimicrobial activities of basidiocarp of some basidiomycetes strains against bacteria and fungi. **Journal of Mycology and Plant Pathology**, v. 41, n. 2, p. 332-334, 2011.
- STADLER, M., KELLER, N. P. Paradigm shifts in fungal secondary metabolite research. **Mycological Research**, v. 112, p. 127-130, 2008.
- SUHARA, H.; KODAMA, S.; KAMEI, I.; MAEKAWA, N.; MEGURO, S. Screening of selective lignin-degrading basidiomycetes and biological pretreatment for enzymatic hydrolysis of bamboo culms. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 75, p. 176-180, 2012.
- TAKAHASHI, J. A.; LUCAS, E. M. F. Ocorrência e diversidade estrutural de metabólitos fúngicos com atividade antibiótica. **Química Nova**, v. 31, n. 7, p. 1807-1813, 2008.
- TAMBEKAR, D. H.; SONAR, T. P.; KHODKE, M. V.; KHANTE, B. S. The novel antibacterial from two edible mushrooms: *Agaricus bisporus* and *Pleurotus sajor caju*. **International Journal of Pharmacology**, v. 2, n. 5, p. 584-587, 2006.
- TAYLOR, P. W. Alternative natural sources for a new generation of antibacterial agents. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 42, n. 3, p. 195-201, 2013.
- TELLES, M. A. S.; MOSCA, A. Avaliação da técnica de microdiluição em placa para determinação da concentração inibitória mínima da isoniazida em cepas de *Mycobacterium tuberculosis*. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v. 59, p. 15-19, 2000.

THEURETZBACHER, U. Accelerating resistance, inadequate antibacterial drug pipelines and international responses. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 39, n. 4, p. 295-299, 2012.

TRABULZI, L. R.; ALTERTHUM, F.; GOMPERTZ, O. F.; CANDEIAS, J. A. N. **Microbiologia**. 3 ed. São Paulo: Atheneu, 1999.

TRIGUI, M.; HSOUNA, A. B.; TOUNSI, S.; JAOUA, S. Chemical composition and evaluation of antioxidant and antimicrobial activities of Tunisian *Thymelaea hirsuta* with special reference to its mode of action. **Industrial Crops and Products**, v. 41, p. 150-157, 2013.

TSAI, P. F.; MA, C. H.; WU, J. S. B. A novel glycoprotein from mushroom *Hypsizygus marmoreus* (Peck) Bigelow with growth inhibitory effect against human leukaemic U937 Cells. **Food Chemistry**, v. 141, n. 2, p. 1252-1258, 2013.

UMEZAWA, H.; IINUMA, H.; ITO, M.; MATSUZAKI, M.; TAKEUCHI, T. Dopamine-hydroxylase inhibitor produced by *Gloeophyllum striatum* and its identity with oosponol. **Journal of Antibiotics**, v. 25, n. 4, p. 239-342, 1972.

VAHIDI, H.; NAMJOYAN, F. Evaluation of Antimicrobial Activity of *Oudemansiella* sp (Basidiomycetes). **Iranian Journal of Pharmaceutical Research**, v. 3, n. 2, p. 115-117, 2004.

VANDERLINDE, D. G.; ONOFRE, S. B. Atividade antimicrobiana de metabólitos produzidos pelo fungo *Pycnoporus sanguineus* (Linnaeus: Fries) Murril. **Revista Saúde e Pesquisa**, v. 3, n. 1, p. 11-16, 2010.

WANG, Y.; SHEN, X.; LIAO, W.; FANG, J.; CHEN, X.; DONG, Q.; DING, K. A heteropolysaccharide, 1-fuco-d-manno-1,6 α -D-galactan extracted from *Grifola frondosa* and antiangiogenic activity of its sulfated derivative. **Carbohydrate Polymers**, v. 101, p. 631-641, 2014.

WASSER, S. P. Medicinal mushrooms as a source of antitumor and immunomodulating polysaccharides. **International Journal of Medicinal Mushrooms**, v. 12, n. 1, p. 1-16, 2010.

WHITE, T. J.; BRUNS, T.; LEE, S.; TAYLOR, J. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenies. In: **PCR Protocols: a Guide to Methods and Applications**, San Diego: Academic Press, 1990, p. 315-322.

WU, G. H.; HU, T.; LI, Z. Y.; HUANG, Z. L.; JIANG, J. G. *In vitro* antioxidant activities of the polysaccharides from *Pleurotus tuber-regium* (Fr.) Sing. **Food Chemistry**, v. 148, p. 351-356, 2014.

YAMAÇ, M.; BILGILI, F. Antimicrobial activities of fruit bodies and/or micelial cultures of some mushroom isolates. **Pharmaceutical Biology**, v. 44, n. 9, p. 660-667, 2006.

ZHANG, J.; TANG, Q.; ZHOU, C.; JIA, W.; SILVA, L.; NQUYEN, L. D.; REUTTER, W.; FAN, H. GLIS, a bioactive proteoglycan fraction from *Ganoderma lucidum*, displays anti-tumour activity by increasing both humoral and cellular immune response. **Life Sciences**, v. 87, n. 19-22, p. 628-637, 2010.

ZJAWIONY, J. K. Biologically active compounds from Aphyllophorales (Polypore) fungi. **Journal Natural Products**, v. 67, p. 300–310, 2004.

ANEXOS

Anexo 1: Sequências obtidas da amostra do fungo 347 e resultado da pesquisa no banco do NCBI

>347

```
AACAAAGACAAACAGTAACATTCTTTGTTCTGATCCTGTGCACCTTATGTAGTCCCAAAGCCTTCACGGGTGG
CGGTTGACTACGTCTACCTCACACCTTAAAGTATGTTAACGAATGTAATCATGGTCTTGACAGACCCTAAAAA
GTTAATACAACCTTCGACAACGGATCTCTTGGCTCTCGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTA
ATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACCTTGGCCCTTTGGTATTCGGAGGGGCA
TGCCCTGTTTGTAGTGTCAATTAATACCATCAACCCCTTTTGTACTTCGGTCTCGAGAGTGGCTTGAAGTGGAG
GTCTGCTGGAGCCTAACCGAACCCGCTTCTCTTAAATGGATTAACGGAATTTCCCTTGGCGGAACCCGCTTCC
AAGTGATTATTTCTACCTCTTTAACATCTTCGGGCTTAACTTGGTCAAGTTTCATAAGAATCTGCTTCTACC
CTCCCCTGGATGGAAATAACCACCTTGCCGCTTACTTTTGTACTTTGCCTTCAATCCAGGAAGAATTCCCCCTT
AATTTAGCCTATAAAAAGCGCGGGGAA
```

Sequences producing significant alignments:

Select: [All](#) [None](#) Selected: 0

	Description	Max score	Total score	Query cover	E value	Ident	Accession
<input type="checkbox"/>	Schizophyllum commune small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence, internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene and in	745	745	94%	0.0	90%	AF280759.1
<input type="checkbox"/>	Schizophyllum commune genes for 18S rRNA, ITS1, 5.8S rRNA, ITS2, 28S rRNA, partial and complete sequence, isolate: 10-3	739	739	94%	0.0	90%	AB470861.1
<input type="checkbox"/>	Schizophyllum commune 18S rRNA gene (partial), ITS1, 5.8S rRNA gene, ITS2 and 26S rRNA gene (partial), specimen voucher CSIRO(M) E707	736	736	93%	0.0	90%	AJ537501.1
<input type="checkbox"/>	Schizophyllum commune isolate 1-84 internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete se	736	736	78%	0.0	94%	AF249390.1
<input type="checkbox"/>	Schizophyllum commune isolate 1-71 internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete se	736	736	78%	0.0	94%	AF249389.1
<input type="checkbox"/>	Aqaricaceae sp. BAB-4070 18S ribosomal RNA gene, partial sequence, internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal tr	734	734	94%	0.0	90%	KJ670290.1
<input type="checkbox"/>	Schizophyllum commune genes for small subunit rRNA, ITS1, 5.8S rRNA, ITS2 and large subunit rRNA, partial and complete sequence, strain: J	734	734	94%	0.0	90%	AB369910.1
<input type="checkbox"/>	Schizophyllum commune isolate HE2742 internal transcribed spacer 1, partial sequence, 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed sp	732	732	96%	0.0	89%	KC505580.1
<input type="checkbox"/>	Schizophyllum commune isolate BDG2-1-1 internal transcribed spacer 1, partial sequence, 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed	732	732	96%	0.0	89%	JQ409156.1
<input type="checkbox"/>	Schizophyllum commune isolate PRJ21 internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete s	732	732	78%	0.0	94%	AF249387.1
<input type="checkbox"/>	Schizophyllum commune isolate HE2740 internal transcribed spacer 1, partial sequence, 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed sp	730	730	97%	0.0	89%	KC505579.1
<input type="checkbox"/>	Aqaricaceae sp. 647 18S ribosomal RNA gene, partial sequence, internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcri	730	730	94%	0.0	89%	JQ312209.1
<input type="checkbox"/>	Schizophyllum commune isolate HLJ_20 internal transcribed spacer 1, partial sequence, 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed sp	730	730	97%	0.0	89%	JN088243.1
<input type="checkbox"/>	Schizophyllum commune isolate UD 26/08 18S ribosomal RNA gene, partial sequence, internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA qe	730	730	93%	0.0	90%	GQ249870.1
<input type="checkbox"/>	Schizophyllum commune isolate BCC26407 18S ribosomal RNA gene, partial sequence, internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA qe	730	730	93%	0.0	90%	FJ372689.1
<input type="checkbox"/>	Schizophyllum commune isolate PRJ29 internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete s	730	730	78%	0.0	94%	AF249386.1

>347_1

```
GGGCCTGGCATCCTACCTGNAGTTGAGGTAAGTCAAAGTTAGCGCGCAAGTCCGCTAGTCTCAATCAAGAG
ACGGTTAGATGCAGACTCCTATTGAAACTGACCAAGGTCAGCCCCGAGATGGTCAACGACGTAGAAATTATC
ACATCGGAGACGCGATCCCGCAAGGGAAATCCGCTAATACATTTAAGAGGAGCTGGCTCCGTTTAGCTTCCA
CCAAACTTCCCTTTCAAACCCTTTTCAAACCAAATTCAAAAAAGGTTTAATGTATTTTATTACCCCTTCAAC
CAGGCTTGGCCCTTCGAATTTCCCAAAGGCCCAAGGGCCCTTCAAATTTCAATTAATTCATTAATTTCTCCATTT
ACCTTTCTTTTCCCTTTTCCCTTCTTCCCTCCATTCCAAACCCAAAAAATCCTTTTCCAAAGTTTATTTA
CTTTTTAAGGCTTTTCCAGAACCTTAATTCCTTCTTTACCTTCTTTAAGTTTTAAGGAAAAAATTCACCCC
CCCCCTTAAAGCTTTTGGACTTCCCTTAAGGTCACCAGAACCAAACCAAATAACTTGTGTTGAATTCTTTATG
AATCTTTCCAGCACCCACCCCAACG AAAGGA
```

Sequences producing significant alignments:

Select: [All](#) [None](#) Selected:0

Alignments Download GenBank Graphics Distance tree of results							
	Description	Max score	Total score	Query cover	E value	Ident	Accession
<input type="checkbox"/>	Schizophyllum commune small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene and	420	420	95%	1e-113	80%	AF280759.1
<input type="checkbox"/>	Uncultured fungus clone FA1-O19 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and j	409	409	95%	2e-110	80%	JX984746.1
<input type="checkbox"/>	Schizophyllum commune genes for 18S rRNA, ITS1, 5.8S rRNA, ITS2, 28S rRNA, partial and complete sequence, strain: NBRC 4928	409	409	95%	2e-110	80%	AB733163.1
<input type="checkbox"/>	Schizophyllum commune strain Sc1 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, an	409	409	95%	2e-110	80%	HQ684720.1
<input type="checkbox"/>	Schizophyllum commune 18S rRNA gene (partial), ITS1, 5.8S rRNA gene, ITS2 and 26S rRNA gene (partial), specimen voucher CSIRO(M) E7	409	409	95%	2e-110	80%	AJ537503.1
<input type="checkbox"/>	Uncultured fungus clone LX037985-122-009-F02 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene, complete seque	409	409	95%	2e-110	80%	GQ851764.1
<input type="checkbox"/>	Trametes robiniophila strain CFCC 6839 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, ar	409	409	95%	2e-110	80%	HM992521.1
<input type="checkbox"/>	Trametes robiniophila strain CFCC 6839 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, q	409	409	95%	2e-110	80%	EU661883.1
<input type="checkbox"/>	Schizophyllum commune genes for small subunit rRNA, ITS1, 5.8S rRNA, ITS2 and large subunit rRNA, partial and complete sequence, strair	409	409	95%	2e-110	80%	AB369909.1
<input type="checkbox"/>	Schizophyllum commune strain NF58 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, s	407	407	94%	8e-110	80%	AJ588263.1
<input type="checkbox"/>	Schizophyllum commune isolate BCC22128 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA	407	407	94%	8e-110	80%	FJ372688.1
<input type="checkbox"/>	Schizophyllum commune isolate HN21 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene,	405	405	93%	3e-109	80%	KJ572203.1
<input type="checkbox"/>	Schizophyllum commune genes for 18S rRNA, ITS1, 5.8S rRNA, ITS2, 28S rRNA, partial and complete sequence, strain: SCC-0749	405	405	95%	3e-109	80%	AB733176.1
<input type="checkbox"/>	Schizophyllum commune 18S rRNA gene (partial), ITS1, 5.8S rRNA gene, ITS2 and 26S rRNA gene (partial), specimen voucher CSIRO(M) E7	405	405	95%	3e-109	79%	AJ537502.1
<input type="checkbox"/>	Schizophyllum sp. FPGLXJ09 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and inter	405	405	94%	3e-109	80%	FJ196608.1
<input type="checkbox"/>	Schizophyllum commune isolate LG8 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, a	403	403	95%	1e-108	79%	KJ093499.1
<input type="checkbox"/>	Schizophyllum commune 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal t	403	403	95%	1e-108	79%	KF679517.1
<input type="checkbox"/>	Schizophyllum commune strain DMRF-7 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene	403	403	95%	1e-108	79%	KC237296.1
<input type="checkbox"/>	Schizophyllum commune strain UCD304-Oe 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA	403	403	95%	1e-108	79%	JX515740.1
<input type="checkbox"/>	Schizophyllum commune strain UCD296-Oe 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA	403	403	95%	1e-108	79%	JX515739.1

Anexo 2: Sequências obtidas da amostra do fungo 474 e resultado da pesquisa no banco do NCBI

>474

```

TGCGGAAGGATCATTAATGAATTCACACTATGGAGTTGTTGCTGGCCCTAGGGGCATGTGCACACTTCACTAGT
CTTTC AACACCTGTGAACCTTTTGATAGATCTGTGAAGTCGTCTCTCAAGTCGTCAGACTTGGTTGCTGGGAT
TAAACGTCCTCGGTGTGACTACGCAGTCTATTTACTTACACACCCCAAATGTATGTCTACGAAATGTCATTTAA
TGGGCCTTGTGCCTATAAACCATAATACAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGCTCTCGCATCGATGAAGAACG
CAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACCTTGGGCC
CCTTGGTATTCCGAGGGGCATGCCTGTTTGAGTGTCAATTAATTTCTCAAACCTCACTTTTGGTTTCTTTCCAATT
GTGATGTTTGGATTGTTGGGGGCTGCTGGCCTTGACAGGTCGGCTCCTCTTAAATGCATTAGCAGGACTTCTC
ATTGCCTCTGCGCATGATGTGATAATTACTCATCAATAGCACGCATGAATAGAGTCCAGCTCTCTAATCG
TCCGCAAGGACAATTTGACAATTTGACCTCAAATCAGGTAGGACTACCCGCTGAACCTTAAGCAT

```

Sequences producing significant alignments:

Select: All None Selected:4

Alignments						
Download GenBank Graphics Distance tree of results						
	Description	Max score	Total score	Query cover	E value	Ident Accession
<input type="checkbox"/>	Uncultured fungus clone CMH171 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and inte	1184	1184	100%	0.0	99% KF800262.1
<input type="checkbox"/>	Pleurotus floridanus strain S040 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and inte	1181	1181	100%	0.0	99% AY540323.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Pleurotus ostreatus voucher ASDNA 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and	1179	1179	100%	0.0	99% KC686865.1
<input type="checkbox"/>	Pleurotus sp. S2007 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcri	1179	1179	100%	0.0	99% JQ868743.1
<input type="checkbox"/>	Pleurotus floridanus strain S2002 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and inte	1179	1179	100%	0.0	99% JQ868739.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Pleurotus sapidus isolate PSW3 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and inte	1179	1179	100%	0.0	99% HM561982.1
<input type="checkbox"/>	Pleurotus sapidus isolate PSW2 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and inte	1179	1179	100%	0.0	99% HM561981.1
<input type="checkbox"/>	Pleurotus sapidus isolate PSW1 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and inte	1179	1179	100%	0.0	99% HM561980.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Pleurotus ostreatus voucher El Coleqio de la Frontera Sur ECS-0184 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1	1179	1179	100%	0.0	99% GU722280.1
<input type="checkbox"/>	Pleurotus floridanus strain PF101 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and inte	1179	1179	100%	0.0	99% GU721058.1
<input type="checkbox"/>	Pleurotus floridanus strain dd08070 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and	1179	1179	100%	0.0	99% FJ810170.1
<input type="checkbox"/>	Pleurotus ervnqii isolate NW450 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and inte	1179	1179	100%	0.0	99% EU520127.1
<input type="checkbox"/>	Pleurotus ostreatus isolate NW449 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and i	1175	1175	100%	0.0	99% EU520110.1
<input type="checkbox"/>	Pleurotus ostreatus isolate NW437 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and i	1175	1175	100%	0.0	99% EU520108.1
<input type="checkbox"/>	Pleurotus ostreatus isolate NW431 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and i	1175	1175	100%	0.0	99% EU520107.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Pleurotus sapidus strain FPSPT 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and inte	1173	1173	99%	0.0	99% JX429940.1

Anexo 3: Sequências obtidas da amostra do fungo 1153 e resultado da pesquisa no banco do NCBI

>1153

AGGGGGTTCAATCTGCAGNATTTGAGGTCAAATGTCAGAGTTGTCCGAAGACGATTAGAAGCTGATCCACTA
 AGGCACTTCACAGACACGGCGTAGACAATTATCACACCGAGGACTGATCCGTAACGGGTCCAGCTAATGCAT
 TTAGAGAGGAGCCGACTAGTCAGCCAGCATGCCTCCAAGTCCAAGCTCATCACAGTCACAAAACTGGGTGA
 GTTGAGATATTCATGACACTCAAACAGGCATGCTCCTCGGAATACCAAGGAGCGCAAGGTGCGTTCAAAGAT
 TCGATGATTCACTGAATTCTGCAATTCACATTACTTATCGCATTTCGCTGCGTTCATCGATGCGAGAGCC
 AAGAGATCCGTTGTTGAAAGTTGTTTATAGATGCGTTATACGCAGATGACATTCTAAGACTACAGTGTATGTG
 TAGAACATAGGAAGAGTAGCCTGACAGAAGCCAAGCCACCCGACCTACAATAGATGCACAGGTGTAAGGTT
 GGATTGAGTAGAGAGCGTGCACATGCCTTGCGGCCAGCTACAACCTCCCCTGGTTAATTCTTAAAGAATCTTTC
 CCCAGTCCNCTTACCGAAGGAAN

Sequences producing significant alignments:

Select: All None Selected:0

Alignments						
Download GenBank Graphics Distance tree of results						
	Description	Max score	Total score	Query cover	E value	Ident Accession
<input type="checkbox"/>	Gloeophyllum striatum voucher Santos 1624 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcriber	976	976	93%	0.0	98% KC345723.1
<input type="checkbox"/>	Gloeophyllum striatum voucher 0904/72-J 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed s	966	966	93%	0.0	98% KC345720.1
<input type="checkbox"/>	Gloeophyllum striatum voucher 1109/39-J 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed s	953	953	93%	0.0	97% KC345721.1
<input type="checkbox"/>	Gloeophyllum striatum voucher ARIZAN031238 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcri	948	948	93%	0.0	97% KJ141171.1
<input type="checkbox"/>	Gloeophyllum striatum voucher 0610/K14-Kout 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcri	946	946	93%	0.0	97% KC345722.1
<input type="checkbox"/>	Gloeophyllum striatum 18S small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S subunit ribosomal RNA gene, and internal transcribe	922	922	93%	0.0	96% HM536092.1
<input type="checkbox"/>	Gloeophyllum trabeum isolate 61750M internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence; s	821	821	90%	0.0	94% AY089733.1
<input type="checkbox"/>	Gloeophyllum trabeum strain FP101508 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed sp	817	817	93%	0.0	93% KJ141175.1
<input type="checkbox"/>	Gloeophyllum striatum strain FPRI-86 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spac	817	817	93%	0.0	93% KJ141172.1
<input type="checkbox"/>	Gloeophyllum trabeum strain GT889/3 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spac	817	817	93%	0.0	93% JX501307.1
<input type="checkbox"/>	Uncultured fungus clone L046973-122-077-B08-unis 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal tr	817	817	93%	0.0	93% JF289096.1
<input type="checkbox"/>	Uncultured fungus clone L046973-122-077-B12-unis 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal tr	817	817	93%	0.0	93% JF289094.1
<input type="checkbox"/>	Uncultured fungus clone L046938-122-076-C04-unis 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal tr	817	817	93%	0.0	93% JF289090.1
<input type="checkbox"/>	Uncultured fungus clone L046938-122-076-C05-unis 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal tr	817	817	93%	0.0	93% JF289089.1
<input type="checkbox"/>	Gloeophyllum trabeum strain KU-41 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer	817	817	93%	0.0	93% JF682771.1
<input type="checkbox"/>	Gloeophyllum subferuquineum isolate FRI-88(a)-C 18S small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S subunit ribosomal RNA g	817	817	93%	0.0	93% HM536093.1
<input type="checkbox"/>	Gloeophyllum trabeum culture-collection DSM-3087 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal tran	817	817	93%	0.0	93% GQ337913.1

Anexo 4: Sequências obtidas da amostra do fungo 1210 e resultado da pesquisa no banco do NCBI

>1210

TGCGGAAGGATCATTAAACGAATCAAACAAGTTCATCTTGGTCTGATCCTGTGCACCTTATGTAGTCCCAAAGC
 CTTCACGGGTGGCGTTGACTACGTCTACCTCACACCTTAAAAGTATGTAAACGAATGTAATCATGGTCTTGAC
 AGACCCTAAAAAGTTAATAACAACCTTTCGACAACGGATCTCTTGGCTCTCGCATCGATGAAGAACGCAGCGAA
 ATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACCTTGCGCCCTTTGGTA
 TTCCGAGGGGCATGCCTGTTTGAAGTGTCAATTAATACCATCAACCCCTTTTACTTCCGGTCTCGAGAGTGGC
 TTGGAAGTGGAGGTCTGCTGGAGCCTAACGGAGCCAGCTCCTCTTAAATGTATTAGCGGATTTCCCTTGGCG
 GATCGCGTCTCCGATGTGATAATTTCTACGTCGTTGACCATCTCGGGGCTGACCTTGGTCAAGTTTCAATAGGA
 GTCTGCTTCAACCGTCTTTGATTGAGACTAGCGACTTGC GCGCTAACTTTTACTTGCCTCAAATCAGGT
 AGGACTACCCGCTGAACTTAAGCATATC

Sequences producing significant alignments:

Select: [All](#) [None](#) Selected: 5

	Description	Max score	Total score	Query cover	E value	Ident	Accession
<input checked="" type="checkbox"/>	Schizophyllum commune small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene and in	1114	1114	100%	0.0	99%	AF280759.1
<input type="checkbox"/>	Uncultured fungus clone LX037985-122-009-F02 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene, complete sequen	1098	1098	100%	0.0	99%	GQ851764.1
<input type="checkbox"/>	Schizophyllum commune genes for small subunit rRNA, ITS1, 5.8S rRNA, ITS2 and large subunit rRNA, partial and complete sequence, strain: J	1098	1098	100%	0.0	99%	AB369909.1
<input type="checkbox"/>	Schizophyllum commune strain NF58 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, an	1096	1096	99%	0.0	99%	KJ588263.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Schizophyllum commune isolate BCC22128 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA ge	1096	1096	99%	0.0	99%	FJ372688.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Schizophyllum commune 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal tra	1092	1092	100%	0.0	99%	KF679517.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Schizophyllum commune strain DMRF-7 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene,	1092	1092	100%	0.0	99%	KC237296.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Schizophyllum commune strain WB033_12 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosoma	1092	1092	100%	0.0	99%	JX848844.1
<input type="checkbox"/>	Schizophyllum commune genes for 18S rRNA, ITS1, 5.8S rRNA, ITS2, 28S rRNA, partial and complete sequence, strain: NBRC 4928	1092	1092	100%	0.0	99%	AB733163.1
<input type="checkbox"/>	Agaricaceae sp. 710 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcri	1092	1092	100%	0.0	99%	JQ312210.1
<input type="checkbox"/>	Schizophyllum commune isolate MY11_1 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene,	1092	1092	100%	0.0	99%	JQ697513.1
<input type="checkbox"/>	Aschersonia alevrodia strain GZZKB 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and	1092	1092	100%	0.0	99%	JQ085990.1
<input type="checkbox"/>	Schizophyllum commune isolate T28 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, anc	1092	1092	100%	0.0	99%	JF439509.1
<input type="checkbox"/>	Schizophyllum commune strain Sc1 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and	1092	1092	100%	0.0	99%	HQ684720.1
<input type="checkbox"/>	Schizophyllum commune strain 1-19 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and	1092	1092	100%	0.0	99%	HM992521.1

Anexo 5: Sequências obtidas da amostra do fungo 1232 e resultado da pesquisa no banco do NCBI

>1232

TGCGGAAGGATCATTAAACGAGTTTTGAAACGGGTTGTAGCTGGCCTTCCGAGGCATGTGCACGCCCTGCTCA
 TCCACTCTACACCTGTGCACTTACTGTAGGTTGGCGTGGGTTTCTGGCCTCCGGGTCAGAAGCATTCTGCCGA
 CCTATGTACACTACAACTCTTAAAGTATCAGAATGTAAACGCGTCTAACGCATCTTAATACAACCTTTCAGCA
 ACGGATCTCTTGGCTCTCGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCA
 GTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACCTTGC GCTCCTTGGTATTCCGAGGAGCATGCCTGTTTGAAGTGTCAATG
 AAATTCTCAACCCATAAATCCTTGTGATCTATGGGCTTGGATTTGGAGGCTTGTGTCGCCGTAACGGTCCGGCTC
 CTCTTGAATGCATTAGCTTGAATCCGTCGGATCGGCTCTCAGTGTGATAATTGTCTACGCTGTGACCGTGAA
 GCGTTTTGGCGAGCTTCTAACCGTCCATTAGGACAATTTTATAACATCTGACCTCAAATCAGGTAGGACTACC
 CGCTGAACTTAAGCATATC

Sequences producing significant alignments:

Select: [All](#) [None](#) Selected:4

Alignments Download GenBank Graphics Distance tree of results							
	Description	Max score	Total score	Query cover	E value	Ident	Accession
<input type="checkbox"/>	Trametes villosa isolate P4 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence	1085	1085	99%	0.0	99%	KF850163.1
<input type="checkbox"/>	Trametes villosa isolate CIAR 60 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence	1081	1081	97%	0.0	100%	KF850162.1
<input type="checkbox"/>	Trametes villosa voucher AJ496 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence	1075	1075	97%	0.0	99%	KF573031.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Trametes versicolor 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1 and 5.8S ribosomal RNA gene, complete sequence	1072	1072	100%	0.0	99%	FJ608597.1
<input type="checkbox"/>	Trametes sp. MGGDL 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1 and 5.8S ribosomal RNA gene, complete sequence	1072	1072	100%	0.0	99%	AY840566.1
<input type="checkbox"/>	Trametes hirsuta genes for 18S rRNA, ITS1, 5.8S rRNA, ITS2, 28S rRNA, partial and complete sequence, strain: NBRC 7038	1068	1068	100%	0.0	99%	AB733170.1
<input type="checkbox"/>	Trametes hirsuta strain 394 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence	1066	1066	100%	0.0	99%	KC920740.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Trametes hirsuta strain B51 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence	1066	1066	100%	0.0	99%	JX501305.1
<input type="checkbox"/>	Trametes hirsuta genes for 18S rRNA, ITS1, 5.8S rRNA, ITS2, 28S rRNA, partial and complete sequence, strain: NBRC 4917	1066	1066	100%	0.0	99%	AB733167.1
<input type="checkbox"/>	Polyporales sp. 4 SR-2012 strain 366 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence	1066	1066	100%	0.0	99%	JQ312191.1
<input type="checkbox"/>	Trametes villosa voucher FP86588sp 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence	1066	1066	100%	0.0	99%	JN164970.1
<input type="checkbox"/>	Trametes hirsuta strain FCL19 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence	1066	1066	100%	0.0	99%	HQ896244.1
<input type="checkbox"/>	Uncultured fungus clone L042885-122-065-B03 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene, complete sequence	1066	1066	100%	0.0	99%	GQ999349.1
<input type="checkbox"/>	Trametes hirsuta strain Bm-2 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence	1066	1066	100%	0.0	99%	GQ280373.1
<input type="checkbox"/>	Uncultured fungus clone S98 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence	1066	1066	100%	0.0	99%	FJ820586.1
<input type="checkbox"/>	Trametes sp. 4267 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence	1066	1066	100%	0.0	99%	AY968077.1
<input type="checkbox"/>	Trametes sp. Y1006 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1 and 5.8S ribosomal RNA gene, complete sequence	1066	1066	100%	0.0	99%	AY840572.1
<input type="checkbox"/>	Uncultured fungus clone CMH546 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence	1061	1061	100%	0.0	99%	KF800635.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Trametes hirsuta voucher HHB8591sp 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence	1061	1061	100%	0.0	99%	JN164953.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Trametes hirsuta voucher FP103959T 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence	1061	1061	100%	0.0	99%	JN164952.1
<input type="checkbox"/>	Trametes hirsuta strain FCL21 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence	1061	1061	100%	0.0	99%	JF308949.1

Anexo 6: Sequências obtidas da amostra do fungo 1528 e resultado da pesquisa no banco do NCBI

>1528

```

GCGGAAGGATCATTATTGAAACACTGAACGCTTGTGGCTTTGCTTCTGTTGCTGACTCTCTTCGCGGGGAGTA
TGTGCACGTCGAAATGTCACCTTGCCTTCTCTGTCCACCTGTGCACTCTTGGTAGATCTGGTCTGGCGCCTC
GCTTGTTAACTCAAGCGGATTGCGAAGGGTGTGCTTCGGCTCCCTTTGGGCGGCTCCAGGTCTACATTTTACA
TCAACTCTTGATGTTTAGAATGCTTGTCTTACTGGACTTGATTGTCCTTTAAACAACCTTATACAACCTTCAAC
AACGGATCTCTGGCTCTCGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAACTAATGTGAATTGCAGAATTC
AGTGAATCATCGAGTCTTTGAACGCACCTTGCGCCCTTTGGTATTCCGAAGGGCATGCCTGTTGAGTGTCAG
TAAACTCTCAACTCTCCTTGTCTTCTTGGCAAGGGCAGAGGTTGGATGGTGGAGGCTTGCCGGACGATGAAC
GTTCCGGCTCCTCTGAAATGCATTAGCGATAAACAACCACTTACTTGGCTACGCTAAGCTGTGATAAATCTAAG
CTGGCTAGATCAGAGTGTGGCAGAGGTCGGGTTTGGGAAGAGCTTCTTGTCTTCTGCGCTTCCGTTAAGCGA
TACATATGCGACTCTGTGCAAGCGTTGAATTGCTTCTAATCGTCCTTTGGGACAACCTTACTGATTATTTGAC
CTCAAATCAGGTAGGACTACCCGCTGAACTTAA

```

Sequences producing significant alignments:

Select: [All](#) [None](#) Selected:4

Alignments							
Download ▾ GenBank Graphics Distance tree of results							
	Description	Max score	Total score	Query cover	E value	Ident	Accession
<input type="checkbox"/>	Oudemansiella canarii voucher TENN62802 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.88S ribosomal RNA	1338	1338	98%	0.0	99%	GQ892793.1
<input type="checkbox"/>	Oudemansiella canarii 18S small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene ar	1336	1336	100%	0.0	98%	AY216473.1
<input type="checkbox"/>	Oudemansiella canarii voucher TENN62801 clone c1 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.88S ribosc	1328	1328	98%	0.0	98%	GQ892795.1
<input type="checkbox"/>	Oudemansiella canarii voucher TENN62801 clone c2 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.88S ribosc	1323	1323	98%	0.0	98%	GQ892796.1
<input type="checkbox"/>	Oudemansiella canarii voucher TENN62801 clone c5 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.88S ribosc	1319	1319	98%	0.0	98%	GQ892799.1
<input type="checkbox"/>	Oudemansiella canarii voucher TENN51190 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.88S ribosomal RNA	1317	1317	98%	0.0	98%	GQ892794.1
<input type="checkbox"/>	Oudemansiella canarii voucher TENN62801 clone c4 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.88S ribosc	1312	1312	98%	0.0	98%	GQ892798.1
<input type="checkbox"/>	Oudemansiella canarii voucher TENN62801 clone c3 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.88S ribosc	1310	1310	98%	0.0	98%	GQ892797.1
<input type="checkbox"/>	Oudemansiella canarii voucher TENN58954 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.88S ribosomal RNA	1214	1214	98%	0.0	96%	GQ892789.1
<input type="checkbox"/>	Oudemansiella canarii voucher TENN56534 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.88S ribosomal RNA	1194	1194	98%	0.0	95%	GQ892790.1
<input type="checkbox"/>	Oudemansiella canarii voucher TENN49023 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.88S ribosomal RNA	1182	1182	98%	0.0	95%	GQ892792.1
<input type="checkbox"/>	Oudemansiella canarii voucher TENN59771 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.88S ribosomal RNA	1179	1179	98%	0.0	95%	GQ892791.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Oudemansiella canarii strain RV96/35 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene, complete sequence; and ir	1077	1077	89%	0.0	95%	AF321477.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Oudemansiella canarii strain RVPR100 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene, complete sequence; and	1066	1066	88%	0.0	95%	AF321479.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Oudemansiella canarii strain RVPR33 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene, complete sequence; and ir	1053	1053	88%	0.0	95%	AF321478.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Oudemansiella canarii strain JM98/221 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene, complete sequence; and i	850	850	87%	0.0	90%	AF321476.1
<input type="checkbox"/>	Oudemansiella australis strain RV95/416 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene, complete sequence; an	784	784	84%	0.0	89%	AF321473.1

Anexo 7: Sequências obtidas da amostra do fungo 1540 e resultado da pesquisa no banco de dados NCBI

>1540

```
TGCGGAAGGATCATTAACGAGTTCTGACATGGGTTGTAGCTGGCCTCACGAGGCATGTGCACGCCCTGCTCA
TCCACTCTACACCTGTGCACTTACTGTAGGTTTGGCGTGGGCTTCGAGGGCCTTCACGGGCTTTTGAGGCATT
CTGCCCTGCCTATGTACTACTACAAACACTATAAAGTAACAGAATGTAATCGCGTCTAACGCATCTTAATACA
ACTTTCAGCAACGGATCTCTTGGCTCTCGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATT
GCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACCTTGCCTCCTTGGTATTCCGAGGAGCATGCCTGTTT
GAGTGTCAATGGTATTCTCAACCCACACATCCTTGTGATGCTTGTGAGGCTTGGACTTGGAGGCTTGCTGGCCC
GTCGCGGTCGGCTCCTCTTGAATGCATTAGCTTGGTTTCTTGCGGATCGGCTCTCAGTGTGATAATTGCTAC
GCTGTGACCGTGAAGCGTTTGGCGAGCTTCTAACCGTCTGCTAGGGACAACCTTACTTGACATCTGACCTCAA
ATCAGGTAGGACTACCCGCTGAACCTAAGCATATCAAT
```

Sequences producing significant alignments:

Select: [All](#) [None](#) Selected:5

Alignments Download GenBank Graphics Distance tree of results							
	Description	Max score	Total score	Query cover	E value	Ident	Accession
<input type="checkbox"/>	Basidiomycota sp. FPF38a internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene, complete sequence, and internal transcribed spacer 2, partial sequence	1144	1144	100%	0.0	100%	JX416577.1
<input type="checkbox"/>	Lenzites elegans isolate PCT22 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, partial sequence	1144	1144	100%	0.0	100%	HQ248217.1
<input type="checkbox"/>	Uncultured fungus clone LX042400-122-057-F05 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene, complete sequence, and internal transcribed spacer 2, partial sequence	1127	1127	100%	0.0	99%	GQ999293.1
<input type="checkbox"/>	Uncultured fungus clone L042882-122-062-H07 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene, complete sequence, and internal transcribed spacer 2, partial sequence	1127	1127	100%	0.0	99%	GQ999222.1
<input type="checkbox"/>	Uncultured fungus clone LX042767-122-058-D10 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene, complete sequence, and internal transcribed spacer 2, partial sequence	1122	1122	100%	0.0	99%	GQ999305.1
<input type="checkbox"/>	Uncultured fungus clone LX042400-122-057-F03 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene, complete sequence, and internal transcribed spacer 2, partial sequence	1122	1122	100%	0.0	99%	GQ999291.1
<input type="checkbox"/>	Uncultured fungus clone L042883-122-063-A01 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene, complete sequence, and internal transcribed spacer 2, partial sequence	1122	1122	99%	0.0	99%	GQ999228.1
<input type="checkbox"/>	Trametes laevis voucher Damm4703 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, partial sequence	1110	1110	97%	0.0	99%	HM756193.1
<input type="checkbox"/>	Uncultured root-associated fungus clone SC800c13P internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene, complete sequence, and internal transcribed spacer 2, partial sequence	1099	1099	100%	0.0	99%	FJ362294.1
<input type="checkbox"/>	Uncultured root-associated fungus clone SC800c3P internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene, complete sequence, and internal transcribed spacer 2, partial sequence	1099	1099	100%	0.0	99%	FJ362293.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Trametes laevis strain BRFM 1120 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, partial sequence	1098	1098	99%	0.0	99%	JX082369.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Trametes laevis strain BRFM 1119 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, partial sequence	1098	1098	99%	0.0	99%	JX082368.1
<input type="checkbox"/>	Uncultured fungus clone CMH510 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, partial sequence	1094	1094	100%	0.0	99%	KF800601.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Trametes cubensis voucher CRM90 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, partial sequence	1088	1088	99%	0.0	99%	JN164989.1
<input type="checkbox"/>	Trametes elegans strain 028 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, partial sequence	1088	1088	100%	0.0	98%	EU661879.1
<input type="checkbox"/>	Trametes laevis voucher Cui7084 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, partial sequence	1086	1086	100%	0.0	98%	JN048769.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Trametes cubensis voucher TJV93 213sp 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, partial sequence	1086	1086	99%	0.0	99%	JN164923.1
<input type="checkbox"/>	Trametes cubensis voucher CR96 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, partial sequence	1086	1086	99%	0.0	99%	JN164922.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Lenzites sp. BRFM 1079 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence	1085	1085	99%	0.0	98%	JX082361.1

Anexo 8: Sequências obtidas da amostra do fungo 1552 e resultado da pesquisa no banco de dados NCBI

>1552

TGCGGAAGGATCATTAAACGAGTTTTGAAACGGGTTGTAGCTGGCCTCCGAGGCATGTGCACGCCCTGCTCA
TCCACTCTTACCCCTGTGCACTTACTGTAGGCTTCAGGCGCGCTGCGGCTTCAACGCCGTGACGTTACTGGG
TCTACGTTTTACTACCAACTACAAAGTATCAGAATGTGTATTGCGATGTAACGCATCTATATACTTTTCAG
CAACGGATCTCTGGCTCTCGCATCGATGAAGAACGCGAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATT
CAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACCTTGGCTCCTTGGTATTCCGAGGAGCATGCCTGTTTGAGTGTCA
TGAAATTCTCAACCTACAAATCTTTGCGGGTTTGTAGGCTTGGACTTGGAGGTTTTTGTGGCTTCTCGCAAG
TCGGCTCCTTAAATGCATTAGCCTGTTTCCTTGGCGATCGGCTCTCGGTGTGATAAATATCTGCGCCGCGA
CCGTGAAGCGTTTGGCTGGCTTCTAATTGTCTCGCTCAAGAGACAGCTTCTTATGACCTCTGACCTCAAATCA
GGTAGGACTACCCGCTGAACCTTAAGCATATCAT

Sequences producing significant alignments:

Select: [All](#) [None](#) Selected: 5

Alignments Download GenBank Graphics Distance tree of results							
	Description	Max score	Total score	Query cover	E value	Ident	Accession
<input checked="" type="checkbox"/>	Earliella scabrosa voucher CR95 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and in	1133	1133	99%	0.0	100%	JN165008.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Earliella scabrosa voucher PR1209 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and in	1133	1133	99%	0.0	100%	JN165009.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Earliella scabrosa voucher CR45 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and in	1133	1133	99%	0.0	100%	JN164992.1
<input type="checkbox"/>	Earliella scabrosa strain MUCL 45097 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, a	1129	1129	99%	0.0	99%	FJ711056.1
<input type="checkbox"/>	Earliella scabrosa voucher Crrel 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and in	1127	1127	99%	0.0	99%	JN165006.1
<input type="checkbox"/>	Corioloropsis byrsina strain ATCC MYA-4557 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA ge	1109	1109	97%	0.0	100%	FJ810520.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Earliella scabrosa strain BRFM 1106 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spac	1068	1068	93%	0.0	100%	JX082364.1
<input type="checkbox"/>	Earliella scabrosa strain CIRM-BRFM 1105 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed	1068	1068	93%	0.0	100%	GU731550.1
<input type="checkbox"/>	Earliella scabrosa strain KP1 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, cor	1051	1051	95%	0.0	99%	KF860879.1
<input type="checkbox"/>	Trametes sp. E7075 ITS1 (partial), 5.8S rRNA gene, ITS2 and 26S rRNA gene (partial), specimen voucher CSIRO(M) E7075	1038	1038	93%	0.0	99%	AJ537506.1
<input type="checkbox"/>	Trametes sp. TNAU-CBE6 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1 and 5.8S ribosomal RNA gene, complete	1022	1022	92%	0.0	99%	JN849392.1
<input type="checkbox"/>	Ganoderma sp. NIOCC 15V internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, com	1014	1014	90%	0.0	99%	EU735845.1
<input type="checkbox"/>	Earliella scabrosa voucher Cui6236 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed space	994	994	89%	0.0	99%	KC867366.1
<input type="checkbox"/>	Earliella scabrosa voucher He31 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2,	990	990	89%	0.0	99%	KC867365.1
<input type="checkbox"/>	Daedaleopsis sinensis voucher Cui3700 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene,	791	791	99%	0.0	90%	FJ627256.1
<input type="checkbox"/>	Fungal endophyte voucher EFOMIA 14 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, a	789	789	99%	0.0	90%	HQ335306.1
<input type="checkbox"/>	Daedaleopsis sp. MUCC801 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and intern	787	787	99%	0.0	90%	KF541330.1
<input type="checkbox"/>	Daedaleopsis sp. MUCC800 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and intern	787	787	99%	0.0	90%	KF541329.1
<input type="checkbox"/>	Daedaleopsis confragosa genomic DNA containing ITS1, 5.8S rRNA gene, ITS2 and 28S rRNA gene, strain Dc8	785	785	99%	0.0	90%	HG973500.1
<input type="checkbox"/>	Daedaleopsis confragosa genomic DNA containing ITS1, 5.8S rRNA gene, ITS2 and 28S rRNA gene, strain Dc6	785	785	99%	0.0	90%	HG973498.1
<input type="checkbox"/>	Uncultured fungus clone CMH365 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and ir	785	785	99%	0.0	90%	KF800456.1
<input type="checkbox"/>	Daedaleopsis confragosa isolate X-78 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, s	785	785	99%	0.0	90%	KC176348.1
<input type="checkbox"/>	Daedaleopsis confragosa isolate X-49 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, s	785	785	99%	0.0	90%	KC176338.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Daedaleopsis confragosa strain BRFM 1143 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribe	785	785	99%	0.0	90%	JX082375.1