

Cauê Azevedo Tomaz Oliveira

**Estudo sistemático do complexo taxonômico *Laetiporus sulphureus* (Bull.)
Murrill (Polyporales, Basidiomycota) no Brasil**

Monografia submetida ao curso de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Santa Catarina para a obtenção do Grau de Licenciado em Ciências Biológicas.

Orientador: Prof. Dra. Maria Alice Neves

Florianópolis
2017

Este trabalho é dedicado aos meus pais, Milton (em memória) e Izabel.

AGRADECIMENTOS

Gostaria de burlar a formalidade e dar o primeiro agradecimento a outra pessoa que não os membros da banca. Antecipadamente peço desculpa mas isto é muito importante.

A primeira pessoa a quem devo fazer um agradecimento por este trabalho é meu pai. Apesar de não poder compartilhar comigo deste momento, sem ele, sem dúvida não estaria me graduando no curso de Ciências Biológicas. Todos sabemos da importância dos pais na nossa própria formação, mas neste caso é um pouco diferente. Meu pai foi a pessoa mais importante quando tomei a decisão de voltar para a Universidade e tentar um novo caminho. Muito obrigado, pai! Que este sentimento chegue a você onde quer que esteja. Em breve vamos nos ver novamente. Assim como já agradei ao meu pai, transmito toda esta gratidão à minha mãe e meu irmão.

Agradeço à minha orientadora, Maria Alice, uma pessoa incrível e que me recebeu de braços abertos logo no começo dessa caminhada, compartilhou dores e ajudou com sua amabilidade a atravessar épocas difíceis. Esta fase chega agora ao fim, mas espero que esta parceria no mundo dos Fungos se estenda por muito mais anos! #respiraFungo!

Obrigado. Ricardo, que nossa relação se aprofunde mais e mais com o tempo e que façamos mais trabalhos a quatro mãos divulgando o Reino mais fantástico que existe!

Obrigado Ricardo Pires, por aceitar o meu convite e analisar o meu trabalho.

Obrigado Olga, por também estar sempre disponível para colaborar neste passo.

Obrigado a todos que compartilharam mais do que horas, suas vidas no Micolab. São tantas pessoas que fica difícil listar todo mundo sem cometer a injustiça de esquecer alguém que passou pelo nosso incrível laboratório.

Muito obrigado, Ari, Alti, Ju, Jimi, as super Maris, Meli, Gesi, Geni, João, Joane, Lari, Marília, Bá, Fê, Lina, Felipe, Sarah, Lari, Saló, Val, Marco, Melissa, Diogo, Caio, Fernando, Cel, Samuca, Quel, Mateus, Pam, Denyse, Marcel, Felipe, Gustavo, Felipe e Carlitos.

Também agradeço aos colegas de sala, em todos os períodos que passaram até chegarmos aqui. Nunca desistam.

Agradeço aos professores do Curso.

Agradeço aos servidores técnico-administrativo e funcionários terceirizados desta Universidade, na pessoa a quem acredito representar o carinho que sinto por seus trabalhos, o funcionário Ademir Machado.

Às instituições que contribuíram direta ou indiretamente com este trabalho: herbários PACA, HURB, ICN, URM, SP; CNPq, no âmbito de financiamento concedido a partir de edital de Chamada Universal; Fundação Oswaldo Cruz, pelos preparos e leituras de experimentos no âmbito do projeto Barcoding de Fungos – BrBol; Pró-Reitoria de Extensão desta Universidade, pelas bolsas concedidas durante a realização deste trabalho e do curso.

Agradeço especialmente o herbário FLOR através de sua gestora Silvia Venturi. Muito obrigado, Silvia! Continuarei a ajudar este herbário de forma voluntária dada a importância e dedicação que estas pessoas colocam na preservação da coleção.

RESUMO

Laetiporus sulphureus é um fungo poliporoide comestível, coletado em diversos continentes do mundo parasitando tanto árvores vivas como mortas entre espécies de *Pinus* spp. (pinheiros), *Quercus* spp. (carvalhos) e *Eucalyptus* spp. (eucaliptos). Em estudos moleculares recentes descobriu-se que muitos espécimes que estavam sendo nomeados como *L. sulphureus* correspondiam a um complexo de espécies filogenéticas. Este fungo também é encontrado no Brasil e os registros sobre ele na base de dados dos herbários do país (SpeciesLink) mostram uma distribuição ampla por todo o território. No presente trabalho foram investigadas as relações de 25 espécimes depositados em herbários e 10 novas coletas feitas em Santa Catarina. Os dados foram comparados com materiais de referência propostos em trabalhos anteriores de filogenia do gênero utilizando-se de abordagens morfológicas, ecológicas e moleculares. Observou-se que a espécie mais ocorrente no Brasil é *L. gilbertsonii*, associado à área urbana e sempre em troncos de *Eucalyptus* spp. cortados. A relação genética destes espécimes estudados e outros da mesma espécie já estudados no mundo concordou com hipóteses já levantadas da biogeografia de *L. gilbertsonii*.

Palavras-chave: fungos comestíveis, taxonomia, filogenia molecular.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 – Mapa de distribuição de *Laetiporus* spp. no Brasil.
- Figura 2 – Exsicatas de *L. sulphureus* com identificação equivocada.
- Figura 3 – Basidioma do espécime FLOR52949.
- Figura 4 – Espécimes encontrados em árvores nativas.
- Figura 5 – Sequência do desenvolvimento do basidioma do espécime CATO156.
- Figura 6 – Observação de características microscópicas do espécime CATO156.
- Figura 7 – Estudo de culturas de micélio dicariótico.
- Figura 8 – Observação das características microscópicas das culturas de *Laetiporus* sp.
- Figura 9 – Árvore filogenética gerada com todas as sequências de *Laetiporus* spp. disponíveis no GenBank (NCBI).
- Figura 10 – Árvore gerada com menos representantes de táxons mais distantes em relação a *L. gilbertsonii*. (Grupo externo: *L. persicinus*)
- Figura 11 – Árvore gerada com menos representantes de táxons mais distantes em relação a *L. gilbertsonii*. (Grupo externo: *Phaeolus schweinitzii*)
- Figura 12 – Árvore gerada com menos representantes de táxons mais distantes em relação a *L. gilbertsonii*. (Grupo externo: *Wolfiporia dilatohypha*)
- Figura 13 – Árvore filogenética criada para ver a relação entre espécimes dentro do clado para *L. gilbertsonii*.

LISTA DE QUADROS

Tabela 1 – Exsicatas de *Laetiporus* spp.

Tabela 2 – Coletas de *Laetiporus* deste trabalho.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

FLOR, *Herbário do Departamento de Botânica da Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.*

PACA, *Herbarium Anchieta, Porto Alegre.*

SP, *Herbário Maria Eneida P. K. Fidalgo, São Paulo.*

HURB, *Herbário do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas.*

ICN, *Herbário do Instituto de Biociências Porto Alegre.*

URM, *Herbário Padre Camille Torrend, Recife.*

cm, centímetro

µm, micrômetro

ITS, *Internal Transcribed Spacer*

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	1
1.1 OBJETIVOS.....	3
1.1.1 Objetivo Geral.....	3
1.1.2 Objetivos Específicos.....	3
2. DESENVOLVIMENTO.....	3
2.1 METODOLOGIA.....	3
2.1.1 Coleta e preparação de espécimes.....	3
2.1.2 Isolamento de micélio somático.....	4
2.1.3 Análise macro e micromorfológica.....	4
2.1.4 Filogenia molecular de <i>Laetiporus sulphureus</i> s.l.....	5
2.2 RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	6
2.2.1 Estudo de espécimes de herbários.....	5
2.2.2 Coletas para Santa Catarina.....	11
2.2.2.1 Anotações das coletas de <i>Laetiporus</i> sp. de Santa Catarina.....	12
2.2.3 Isolamento de micélio somático.....	16
2.2.4 Análise da filogenia molecular dos espécimes do Brasil.....	18
3 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	26
REFERÊNCIAS.....	28

1 INTRODUÇÃO

Conhecido popularmente como “galinha do mato” (*chicken of the woods*), *Laetiporus sulphureus* (Bull.: Fr.) Murrill (Polyporales, Basidiomycota) é um fungo comestível encontrado em diversas partes do mundo, principalmente na Europa e Estados Unidos, associado a diferentes substratos, porém sempre degradando madeira (LINDNER; BANIK, 2011).

O gênero *Laetiporus* foi proposto por Murrill (1904) como uma combinação nova para o nome dado por Fries (1821), *Polyporus sulphureus* (Bull.) Fr.. A espécie foi descrita macroscopicamente apresentando basidioma em prateleira, imbricado (*multiplex*) e cespitoso, com coloração variável entre o amarelo vivo e o laranja avermelhado na parte superior do pileo, que é imbricado e glabro. Ele continua a descrição do basidioma escrevendo que o himenóforo poroide tem a coloração amarela cítrica, como enxofre.

Saccardo (1888) descreveu os esporos como hialinos, lisos, com parede fina e ovóides, medindo de 7-8 μ m x 4-5 μ m. Burdsall e Banik (2001) fizeram um estudo amplo da ocorrência do gênero na América do Norte e descreveram mais detalhadamente a microscopia, enfatizando o sistema hifal dimítico presente nas hifas do contexto do basidioma, além da podridão do tipo marrom, em que o fungo digere apenas hemicelulose e celulose das paredes das células vegetais, deixando a lignina no substrato.

Laetiporus sulphureus pode atacar árvores vivas ou mortas, nas raízes ou em partes mais altas do tronco principal do hospedeiro. O aparecimento do fungo em florestas do hemisfério norte está restrito a árvores como o *Quercus* spp. (carvalhos), *Eucalyptus* spp. (eucaliptos) e *Pinus* spp. (pinheiros). Os basidiomas surgem no final do verão e no outono (BANIK; BURDSALL, 2000).

Existem indicações de que *L. sulphureus* corresponda a um complexo taxonômico que inclui várias espécies que se assemelham macroscopicamente. Algumas coleções já estão sendo redeterminadas. Burdsall et al. (BANIK; BURDSALL; VOLK, 1998) relacionaram aspectos ecológicos com variações polimórficas em diversas coletas identificadas como *L. sulphureus* nos Estados Unidos e evidenciaram a existência de um complexo de espécies filogenéticas dentro do gênero.

Em 2012, Banik e colaboradores adicionaram outras coletas às análises para tentar explicar a história evolutiva do gênero, já que muitos espécimes coletados em todo o mundo são identificados como *Laetiporus sulphureus* (sensu lato) (BANIK et al., 2012). Os autores

concluíram que há mais espécies de *Laetiporus* do que antes se sabia, incluindo *Laetiporus caribiensis* Banik & D.L. Lindner. Uma nova espécie também foi proposta a partir de coletas no Brasil. *Laetiporus squalidus* R.M. Pires, Motato-Vásquez & Gugliotta (PIRES; MOTATO-VÁSQUEZ; DE MELLO GUGLIOTTA, 2016). Neste mesmo trabalho, há um primeiro estudo da distribuição do gênero para o Brasil. Os autores afirmaram que apenas *L. persicinus* (Berk. & M.A. Curtis) Gilb. e *L. gilbertsonii* Burds. teriam registros para o país.

O banco de dados dos herbários do Brasil (SpeciesLink) contém 91 registros de materiais identificados como sendo do gênero *Laetiporus*.

A distribuição pan-americana de *L. gilbertsonii* (VASAITIS et al., 2009) leva a crer que muitas das exsicatas atualmente identificadas como *L. sulphureus* nos herbários brasileiros na verdade seriam *L. gilbertsonii*. A espécie estaria diretamente associada a *Eucalyptus* spp.

L. sulphureus é considerado de fácil reconhecimento apenas pelas características macroscópicas do basidioma. Este fungo é muito apreciado por coletores de cogumelos em todo mundo por causa da sua textura e sabor. David Arora (ARORA, 1986) inclui *L. sulphureus* em uma lista, junto com outras três espécies, que ele chama “à prova de ingênuos”, por serem espécies comestíveis com características diagnósticas claras e pela ausência de intoxicação por ingestão. Apesar da segurança na identificação e consumo existem alguns registros de intoxicação por *L. sulphureus*, geralmente decorrente da falta de informação sobre o preparo ou reações alérgicas desconhecidas (MILLER, 1981).

Portanto, em pouco tempo, um gênero que era monoespecífico leva questões muito importantes sobre a taxonomia. Atualmente são considerados 21 clados dentro do gênero *Laetiporus* (SONG; CUI, 2017), sendo que as espécies *L. persicinus* e *L. squalidus* não estão incluídas. Sugerem-se mais estudos para delimitar um novo gênero para estes táxons excedentes.

Levando isso em consideração, um outro debate possível é sobre tomadas de decisões para a taxonomia, que dependem das mais de 30 definições existentes para espécie (ENDERSBY, 2009). Este debate é muito sério, pois a partir dele serão tomadas decisões políticas importantes em relação à conservação de espécies (GARNETT; CHRISTIDIS, 2017; ISAAC, 2004).

Portanto, determinar como um ser vivo será reconhecido é muito importante para evitar confusão de identidade. Especialmente para um fungo como *Laetiporus*, que desperta interesse por sua comestibilidade e composição nutricional (ALQUINI et al., 2004; DAVOLI et al., 2005;

ERICSSON; IVONNE, 2009; OLENNIKOV; TANKHAEVA; AGAFONOVA, 2011; RAPIOR et al., 2000; WEBER; MUCCI; DAVOLI, 2004), assim como a sua utilização na indústria com a utilização de suas enzimas e outros produtos do seu metabolismo para testar tratamentos médicos e de biorremediação de ambientes (KANG et al., 1982; KARTAL et al., 2004; LEAR et al., 2009; LEE et al., 2009; LÉON et al., 2004; OLENNIKOV et al., 2011; YOSHIKAWA et al., 2001).

O interesse em *L. sulphureus* também se reflete na tentativa do seu cultivo. Em toda literatura disponível, existe apenas um estudo que mostra sucesso na obtenção do basidioma deste fungo (PLESZCZYŃSKA et al., 2013).

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo Geral

Saber se os espécimes encontrados no Brasil estão incluídos na atual delimitação nomenclatural de *Laetiporus sulphureus* sensu stricto através de ferramentas ecológicas, morfológicas e moleculares.

1.1.2 Objetivos Específicos

Revisar coleções dos herbários brasileiros com nomes que correspondam a *Laetiporus sulphureus* ou táxons relacionados;

Coletar, identificar espécimes, isolar culturas *in vitro* e criar um banco de culturas de micélio dicariótico;

Descrever as características morfológicas macroscópicas e microscópicas dos espécimes coletados ou recebidos de empréstimo de herbários;

Extrair, amplificar e sequenciar a região ITS dos espécimes coletados e de espécimes de herbário coletados em outras regiões do país;

Analisar as relações entre os espécimes do Brasil e os materiais de referência para a sequência da região ITS do DNA ribossomal.

2 DESENVOLVIMENTO

2.1 METODOLOGIA

2.1.1 Coleta e preparação de espécimes

Foram revisadas as coleções depositadas nos herbários PACA, HURB, ICN, URM, SP e FLOR, totalizando 15 espécimes. As coletas foram feitas na região de Florianópolis, no Horto Florestal do Córrego

Grande e no campus Trindade da Universidade Federal de Santa Catarina. As coletas foram oportunistas e dois espécimes eram de outros coletores. As coletas foram numeradas e desidratadas para preservação. Os basidiomas foram estudados de acordo com métodos tradicionais em micologia (Largent 1986, Largent et al. 1977).

2.1.2 Isolamento de micélio dicariótico

A partir dos basidiomas foram feitas culturas em placas de Petri utilizando os métodos convencionais de isolamento de fungos.

O isolamento de culturas foi feito em câmara de fluxo laminar, seguindo padrões de esterilização de laboratório. Um fragmento do basidioma que não estava em contato direto com o ar foi retirado para fazer o isolamento em placas de Petri com meio de cultura. O meio de cultura utilizado foi o ágar batata dextrose (BDA), sem antibióticos.

O acompanhamento do crescimento e a descrição de suas características seguiram as metodologias propostas por Nobles (NOBLES, 1948) e Stalpers (STALPERS, 1978) para a identificação de fungos através do crescimento do micélio dicariótico.

O experimento consistiu em um acompanhamento feito durante 6 semanas de micélio cultivado em placas de Petri em condições ambientais controladas. A cada semana, uma das placas foi retirada do experimento para verificar e quantificar as medidas macroscópicas e microscópicas das células fúngicas e também as diferentes estruturas que foram produzidas durante o crescimento do fungo.

As características observadas receberam o código proposto nestes trabalhos referenciados e as matrizes foram comparadas.

As amostras dos espécimes com culturas isoladas foram reservadas para a manutenção em um banco de culturas vivas no Laboratório de Micologia da UFSC (Micolab).

2.1.3 Análise macro e micromorfológica

A descrição macroscópica envolveu dados de cor, odor, dimensões e forma dos basidiomas, além de dados ecológicos. Depois de serem descritos, os basidiomas foram desidratados em um secador de frutas com circulação de ar com temperatura até 40 °C.

As observações microscópicas foram feitas montando-se os cortes feitos a mão livre em lâminas com KOH (Hidróxido de Potássio) a 5%,

reagente de Melzer e floxina. A descrição microscópica incluiu dimensão das hifas e dos basidiósporos e presença e dimensões de outras estruturas microscópicas.

As estruturas microscópicas foram fotografadas com equipamento digital e as medidas foram feitas com uma régua micrométrica acoplada à ocular do microscópio.

2.1.4 Filogenia molecular de *Laetiporus sulphureus* s.l.

Quarenta fragmentos foram retirados de materiais herborizados e de basidiomas coletados pelo autor (aprox. 10mg) foram armazenados em tubos “Eppendorf” com sílica para serem usados para fazer a extração de DNA.

Para elucidar as relações filogenéticas entre as espécies de *Laetiporus* e auxiliar na delimitação das espécies deste complexo para os espécimes brasileiros foi utilizado apenas um marcador molecular, a região ITS (*internal transcribed spacer*) do DNA nuclear ribossômico.

A extração do DNA total dos materiais coletados e herborizados seguiram o protocolo de Romano & Brasileiro (ROMANO, E.; BRASILEIRO, 1998), adaptado para fungos. Para a amplificação das regiões ITS foram utilizados os pares de iniciadores ITS1 e ITS4 (DENTINGER; MARGARITescu; MONCALVO, 2010).

As amostras amplificadas e purificadas foram encaminhadas para sequenciamento no Centro de Pesquisas Renné Rachou na Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz) de Belo Horizonte/MG, no âmbito do projeto Identificação Molecular de Fungos do Brasil.

As sequências geradas foram analisadas e editadas manualmente através do software Geneious v.10.3.1 (KEARSE et al., 2012). Foi montada uma matriz com os dados gerados durante este trabalho e sequências obtidas do GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank>) geradas por Banik e colaboradores (BANIK et al., 2010b, 2012; BANIK; BURDSALL; VOLK, 1998; BURDSALL; BANIK, 2001; SONG; CUI, 2017). Junto a estas sequências foram realizados testes filogenéticos utilizando o modelo proposto por Tamura-Nei para revelar as distâncias genéticas entre os espécimes. Todas as sequências geradas neste trabalho serão depositadas no GenBank.

Os procedimentos moleculares antes do sequenciamento foram realizados no Laboratório de Biologia Molecular do Departamento de Botânica da UFSC. As amostras resultantes dos procedimentos de extração, amplificação e purificação estão armazenadas a -20°C.

2.2 RESULTADOS E DISCUSSÕES

2.2.1 Estudo de espécimes de herbários

Através da rede de herbários “Species Link”, foram buscadas todas as coleções identificadas como *Laetiporus* e seus sinônimos nomenclaturais.

Foram encontrados 91 registros sob o nome *Laetiporus* ou sinônimos. Os registros estão vinculados à herbários brasileiros e também à coleção de fungos brasileiros do Herbário de Nova Iorque (NYBG-BR). Dos 91 registros, 64 são coletas realizadas em território brasileiro. Outros espécimes têm origem diversa, como Europa, Ásia, América do Norte, América Central e América do Sul (Argentina).

Destas 64 coletas feitas em território brasileiro, mais da metade (53), concentram-se nas regiões Sul e Sudeste. Na divisão por regiões, o segundo local com mais coletas de *Laetiporus* concentra-se na Região Norte (11), seguido pela região Nordeste (6) e Centro Oeste (1). Duas coleções estão registradas para o Brasil mas não têm informação sobre a localidade específica.



Figura 1. Mapa de distribuição de *Laetiporus* spp. no Brasil. Mapa obtido através do site smlink.org.br. Marcações no mapa correspondem aos herbários onde estão preservados os espécimes pesquisados.

Quinze espécimes dos Herbários PACA, HURB, ICN, URM, SP (siglas) foram recebidos como empréstimo e dez espécimes foram obtidos do Herbário FLOR. A tabela 1 apresenta todos os materiais de coleções de herbários estudados durante este trabalho.

Tabela 1. Exsiccatas de *Laetiporus* spp. analisadas neste estudo.

Nome	Número de acesso	Localidade	Hospedeiro
<i>Polyporus sulphureus</i>	PACA85521	Cachoeirinha, RS	---
<i>Laetiporus sulphureus</i>	PACA113980	São Leopoldo, RS	---
<i>Laetiporus</i> sp.	PACA 111981	Sapiranga, RS	---
<i>Laetiporus sulphureus</i>	FLOR11800	Florianópolis, SC	Em raiz tabular, espécie do hospedeiro não citada.
Nome (cont.)	Número de acesso	Localidade	Hospedeiro
<i>Laetiporus</i> sp.	FLOR45530	Vilhena, RO	---
<i>Laetiporus sulphureus</i>	FLOR52949	Florianópolis, SC	---
<i>Laetiporus sulphureus</i>	FLOR48163	Florianópolis, SC	---
<i>Laetiporus sulphureus</i>	FLOR10262	Florianópolis, SC	Em árvore viva, espécie do hospedeiro não citada.
<i>Laetiporus sulphureus</i>	FLOR11127	Florianópolis, SC	---
<i>Laetiporus sulphureus</i>	FLOR11579	Florianópolis, SC	---

<i>Laetiporus sulphureus</i>	FLOR11772	Florianópolis, SC	<i>Eucalyptus</i> sp.
<i>Laetiporus sulphureus</i>	HURB9802	Gandu, BA	---
<i>Laetiporus sulphureus</i>	ICN6578	Porto Alegre, RS	<i>Eucalyptus</i> sp.
<i>Laetiporus persicinus</i>	URM84274	Recife, PE	---
<i>Laetiporus sulphureus</i>	URM81365	Moreno, PE	---
<i>Laetiporus persicinus</i>	URM79688	Melgaço, PA	---
<i>Laetiporus persicinus</i>	SP308005	São Paulo, SP	No solo.
Nome (cont.)	Número de acesso	Localidade	Hospedeiro
<i>Laetiporus persicinus</i>	SP380153	São Paulo, SP	No solo.
<i>Laetiporus sulphureus</i>	SP307884	Curitiba, PR	<i>Eucalyptus</i> sp.
<i>Laetiporus sulphureus</i>	SP250696	São Paulo, SP	<i>Eucalyptus</i> sp.
<i>Laetiporus sulphureus</i>	SP307821	São Paulo, SP	<i>Eucalyptus</i> sp.
<i>Laetiporus persicinus</i>	SP380156	São Paulo, SP	No solo.

Apesar da grande quantidade de materiais depositados em herbários brasileiros sob o nome *Laetiporus* vários empréstimos não foram conseguidos. Além disso, optou-se por não solicitar exsicatas muito

antigas, pois isto dificultaria os processos de obtenção de DNA para o sequenciamento da região ITS.

Os materiais recebidos foram estudados e separados entre aqueles que eram efetivamente pertencentes ao gênero *Laetiporus* e aqueles que estavam identificados erroneamente. Em vários casos isso foi feito através da observação macroscópica dos espécimes, pois os basidiomas deste gênero, quando estão secos, ficam com textura de isopor e são muito leves e quebradiços como giz de calcário.



Figura 2. Exsicatas de *Laetiporus sulphureus* com identificação equivocada. URM 81365 (A e B), FLOR 11579 (C e D) e FLOR45530 (E e F).

Além da identificação equivocada de alguns materiais, outro problema para resolver o que foi proposto para este trabalho foi a falta de informações essenciais sobre o basidioma. Como pode ser observado na Tabela 1, quase dois terços dos materiais não têm a informação sobre o hospedeiro.

Para a exsicata de número FLOR45530, por exemplo, com a pouca informação incluída com o espécime preservado, dependemos exclusivamente de ferramentas da Biologia Molecular para tentar dar um nome correto.



Figura 3. Basidioma identificado como *Laetiporus sulphureus* (FLOR52949). Foram obtidas seqüências de DNA deste espécime para o estudo.

Além das exsicatas de *Laetiporus sulphureus*, foram pedidas amostras de *Laetiporus persicinus*, que pode ser diferenciado por apresentar uma coloração mais escura e formar rosetas próximas às raízes, o que não é observado em *L. sulphureus*. Basidiomas de *L. persicinus* se assemelham na forma de crescimento a espécies do gênero *Phaeolus*.

Laetiporus persicinus é discutido nos trabalhos de filogenia molecular (BANIK et al., 2010b, 2012; BANIK; BURDSALL; VOLK, 1998; BURDSALL; BANIK, 2001; SONG; CUI, 2017) como possivelmente pertencente a outro gênero não compartilhando da mesma história evolutiva que as espécies de *Laetiporus* sensu stricto.

Os basidiomas secos de *Laetiporus persicinus* eram muito diferentes na cor e densidade daqueles identificados como *Laetiporus sulphureus*. Infelizmente, não foram feitas coletas de *L. persicinus* para comparar com os *Laetiporus* spp. coletados para este trabalho.

Microscopicamente *L. persicinus* são similares às espécies de *Laetiporus sulphureus* s.l. O sistema hifal é dimitico, os esporos elipsoides e hialinos, com tamanhos muito próximos àqueles observados em *L. sulphureus* s.l.

Dentre as amostras de empréstimo apenas de FLOR52949 obteve-se seqüências da região ITS de boa qualidade para análise filogenética. O

baixo sucesso provavelmente está relacionado ao estado de preservação, manutenção ou à forma de desidratação dos espécimes de herbário.

2.2.2 Coletas para Santa Catarina

Foram realizadas 15 coletas de *Laetiporus* em Santa Catarina durante o período deste trabalho. Quatorze espécimes foram coletados na cidade de Florianópolis e um foi proveniente de Blumenau.

A tabela 2 apresenta os dados das coletas feitas durante o período deste trabalho.

Tabela 2. Coletas de *Laetiporus* feitas durante o trabalho. (a: material cultivado para estudo de micélio somático; b: extração de DNA; c: espécime perdido.)

Número de coletor	Localidade	Hospedeiro
MAR1276/16 ^{a,b}	Florianópolis	<i>Eucalyptus</i> sp.
MAR1277/16 ^{a,b}	Florianópolis	<i>Eucalyptus</i> sp.
MAR1279/16 ^{a,b}	Florianópolis	<i>Eucalyptus</i> sp.
MAR1280/16 ^{a,b}	Florianópolis	<i>Eucalyptus</i> sp.
MAR1281/16 ^{a,b}	Florianópolis	<i>Eucalyptus</i> sp.
MAR1282/16 ^{a,b}	Florianópolis	<i>Eucalyptus</i> sp.
MAR1283/16 ^{a,b}	Florianópolis	<i>Eucalyptus</i> sp.
CATO133 ^b	Florianópolis	<i>Eucalyptus</i> sp.
CATO156 ^b	Florianópolis	<i>Eucalyptus</i> sp.
CATO158 ^b	Florianópolis	<i>Eucalyptus</i> sp.
CATO157 ^b	Florianópolis	<i>Eucalyptus</i> sp.
CATO182	Florianópolis	<i>Eucalyptus</i> sp.
DS1682 ^b	Blumenau	<i>Tibouchina</i> sp.
DS1327 ^c	Urubici	<i>Drimys</i> sp.

Apenas um dos espécimes estudados foi coletado em *Tibouchina* sp. Aulbl., hospedeiro nativo. Infelizmente não foi possível obter seqüências de ITS para incluir nas análises. Outro espécime foi coletado em *Drymis* sp. Miers, também nativo (Drechsler-Santos, comunicação pessoal), porém o espécime está perdido.



Figura 4. Espécimes encontrados em árvores nativas. **A**, registro da coleta DS1327 feita em Mata Nebular, crescendo sobre possivelmente uma árvore do gênero *Drimys* viva. Foto de E.R. Drechsler-Santos. **B**, *Laetiporus* sp. (DS1682) crescendo sobre *Tibouchina* sp. Foto de F. Bittencourt. **C**, *Laetiporus* sp. (DS1682). Superfície superior e inferior do basidioma. Foto de F. Bittencourt. **D**, Árvore hospedeira do espécime DS1682.

2.2.2.1 Anotações das coletas de *Laetiporus* sp. de Santa Catarina

Todas as coletas realizadas no estado de Santa Catarina e que foram estudadas para este trabalho foram feitas em áreas urbanas das localidades mencionadas no item anterior. O espécime DS1682 foi o único encontrado em hospedeiro diferente dos demais (neste, em *Tibouchina* sp.). O basidioma coletado estava imaturo e não foram observados basídios e basidiósporos neste material. As outras

características encontradas coincidem com a caracterização de *L. sulphureus sensu lato*.

Características macroscópicas. Os espécimes coletados apresentavam basidiomas com tamanho entre 10cm e 25cm de diâmetro com formato flabeliforme (em forma de leque). Apresentavam um pequeno estipe (entre 0,5 e 2cm de comprimento e de 1 até 4cm de largura) por onde se sustentavam no substrato. Os basidiomas estavam dispostos em prateleira sobre o hospedeiro (*multiplex*) variando em número, de solitários a até seis esporóforos por conjunto. Em um mesmo tronco podem ser encontrados mais de um conjunto destas prateleiras. Os troncos onde foram encontrados basidiomas para este estudo apresentavam padrão de decomposição do tipo podridão marrom, em que a madeira fica com aspecto cúbico e não fibroso de coloração escura.

Ainda sobre a macromorfologia dos basidiomas, eles apresentavam coloração que variava do laranja vivo a tons mais pálidos desta mesma cor. Também parte superior com zonações concêntricas de cores entre o amarelo e o laranja, além de serem levemente ondulados radialmente nesta superfície. O himenóforo dos espécimes coletados tinha coloração amarelo cítrico, variando em colorações mais pálidas de amarelo. Os poros eram de redondos a levemente angulados e pequenos, apresentando um dissipimento levemente engrossado e cobriam a superfície inferior dos basidiomas a uma taxa de 4 poros/mm. A camada de tubos formada nestes basidiomas tinham em média 5mm de comprimento.



Figura 5. Sequência do desenvolvimento do basidioma do espécime CATO156. A, Primeiro dia de visualização do espécime. Em primeiro plano, madeira com características de estar sofrendo de podridão marrom (padrão cúbico). B, Segundo dia de visualização do espécime. C, Sexto de visualização do espécime. O espécime foi coletado neste dia (26/10/2016). D, Algumas características macroscópicas do espécime CATO156. Superfície do píleo de cor alaranjada e zonada radialmente acompanhando o formato de leque. Pequeno estipe em que se adere ao hospedeiro. Himenóforo amarelo cítrico. Contexto de branco a salmonado.

Características microscópicas. Os basidiomas apresentavam sistema hifal dimítico, com hifas esqueleto-ligadoras ramificadas de parede grossa (até 1 μ m de espessura) com lúmen de diâmetro que variava entre 3 μ m e 5 μ m; e hifas generativas hialinas com septo simples e diâmetro variando entre 2 μ m e 3 μ m. As hifas esqueleto-ligadoras eram mais abundantes na região do contexto e ausentes no himênio,

enquanto as hifas generativas eram abundantes na região do himênio e também foram encontradas no contexto.

Em espécimes maduros, observaram-se, no himênio, basídios clavados e sem fibula ($22\text{-}24\mu\text{m} \times 5\text{-}7\mu\text{m}$), tetraesterigmados (média $3\mu\text{m}$). Os basidiósporos tinham formato de elipsoide a subgloboso ($5,5\text{-}7\mu\text{m} \times 3,5\text{-}5\mu\text{m}$), eram lisos, hialinos e inamiloides. Não apresentavam cystídios no himênio. Muitas coletas não estavam maduras e não foram observadas as células sexuais (basídios e basidiósporos) durante os estudos microscópicos.

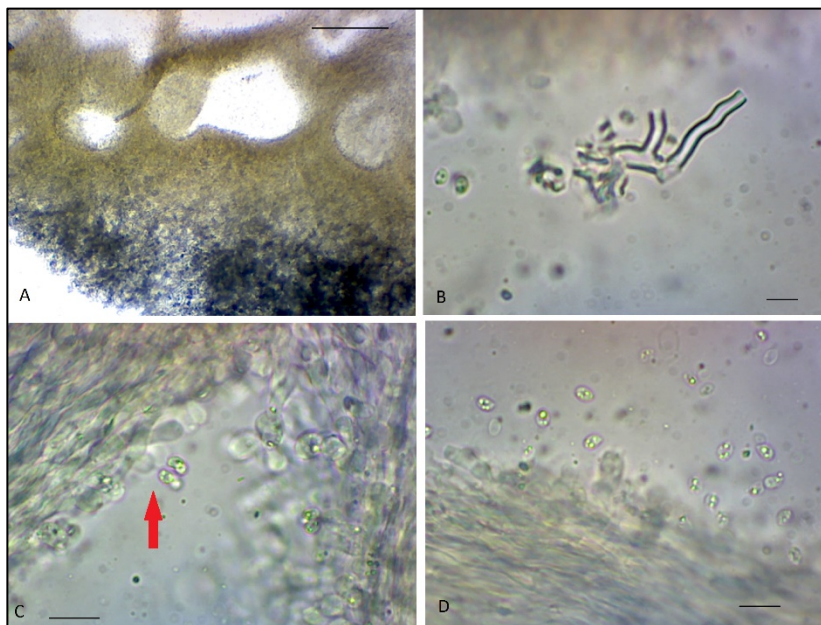


Figura 6. Observação de características microscópicas do espécime CATO156. A, visualização do estado hifal dimítico de *Laetiporus* spp. Nesta lâmina, vemos hifas generativas (tons castanhos) formando os tubos, concentrando-se nas regiões do himênio e hifas esqueléticas (tons pretos) com paredes grossas e presentes no contexto do basidioma. Barra= $350\mu\text{m}$. B, detalhe de um fragmento de uma hifa esqueleto-ligadora ramificada, característica do gênero *Laetiporus*. Barra= $10\mu\text{m}$. C, detalhe do himênio e basídio tetrasporado (seta). Barra= $10\mu\text{m}$. D, detalhe dos esporos elipsoides e hialinos. Barra= $10\mu\text{m}$.

Outras anotações feitas sobre as novas coletas para o estado de Santa Catarina são relacionadas a sazonalidade do aparecimento dos basidiomas. Em um mesmo hospedeiro, os basidiomas poderiam ser produzidos durante o período entre o verão e o outono mais de uma vez. Sobre o desenvolvimento do basidioma, também se observou a sincronia entre indivíduos que cresciam em hospedeiros diferentes, chamando atenção para a observação de estímulos ambientais que sinalizam ao fungo o momento de produzir e dispersar esporos.

Estas novas coletas (Tabela 2) mostraram como estes fungos podem estar limitados a certas áreas. Os basidiomas encontrados durante este projeto estavam localizados em uma área restrita com raio de 1km no máximo. Em outras áreas com *Eucalyptus* spp., como plantações, por exemplo, não encontramos nenhum representante do gênero *Laetiporus*.

Um dos fatores que podem ter contribuído para isso é que como coletor, estava em constante observação nestas áreas onde foram coletados os basidiomas (Universidade Federal de Santa Catarina). Porém, podemos considerar que ele esteja presente em áreas urbanizadas em que havia sido plantado os *Eucalyptus* spp., mas que agora estavam sendo cortados.

2.2.3 Isolamento de micélio somático

Foram feitos cultivos de micélio dicariótico a partir de basidiomas frescos de 8 amostras. O crescimento em placas de petri de 9mm foi acompanhado por seis semanas, seguindo a metodologia de Stalpers (1978) e Nobles (1948) para identificação de fungos a partir do cultivo do micélio somático.

Características macroscópicas. Micélio tênue no início do crescimento, ficando com aspecto algodinoso, sendo mais alto do centro para a extremidade da placa. Coloração branca, tornando-se amarelo clara em placas mais antigas (mais de seis semanas). Odor adocicado, mas não muito forte. Colonização total da placa atingida no final da segunda semana após a inoculação. Placas muito velhas (mais de seis semanas depois da inoculação) apresentaram mudança da coloração do seu fundo, tornando-se castanho escuras.

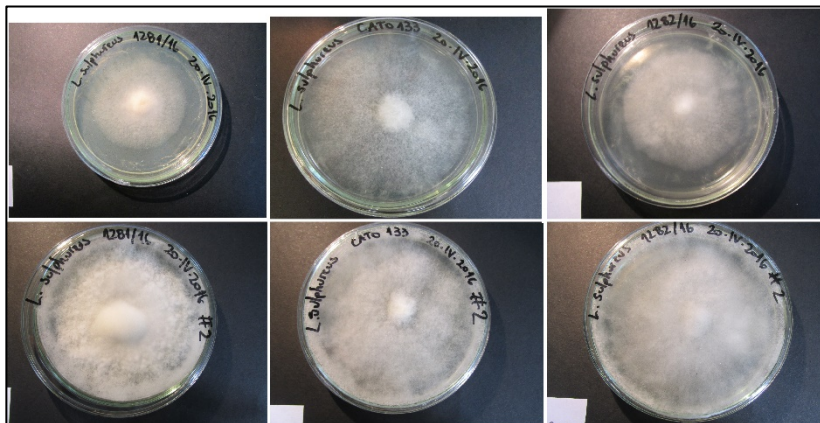


Figura 7. Estudo de culturas de micélio dicariótico dos espécimes MAR1281, CATO133 e MAR1282. Na parte superior placas de petri com uma semana de crescimento. Na parte inferior, placas de petri com duas semanas de crescimento.

Características microscópicas. As culturas apresentavam hifas generativas de septo simples (diâmetro variando entre 4 e 12 μ m, mais abundantes no micélio aéreo). Após o crescimento do micélio sobre toda a placa (2 semanas após a inoculação), foram observados conidióforos ramificados e abundantes, carregando conídios terminais redondos (10-11 μ m de diâmetro). Clamidósporos redondos e ovais também foram observados a partir da segunda semana após a inoculação (22-24 μ m x 20-24 μ m). Imersos nas hifas também foram medidos cristais cúbicos com lados variando entre 3 e 5 μ m.

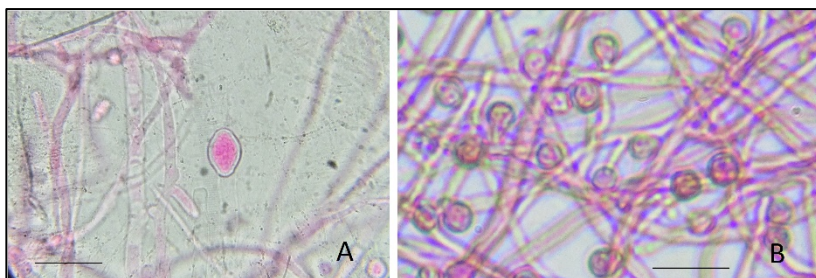


Figura 8. Observação das características microscópicas das culturas de *Laetiporus* sp.. A, clamidósporo em uma cultura de duas semanas de crescimento Barra=30 μ m. B, conidióforos e conídios terminais. Barra=30 μ m.

As culturas isoladas foram mantidas em meio líquido através do método Castellani (1967) para preservação na micoteca viva do Laboratório de Micologia.

A taxa de crescimento foi uniforme para todas as culturas estudadas (MAR1276/16, MAR1277/16, MAR1278/16, MAR1279/16, MAR1280/16, MAR1281/16, MAR1282/16 e MAR1283/16) e as mesmas estruturas microscópicas foram observadas, coincidindo com a descrição de Stalpers (1978) para a espécie. Neves (1998) e Neves e Loguercio Leite (1999) estudaram *L. sulphureus* em cultivo obtendo resultados similares que, assim como as culturas estudadas neste trabalho, corroboram com a identificação de *L. sulphureus* sugerida pela chave de identificação proposta por Stalpers (1978). O problema é que esta proposta foi feita décadas antes de *Laetiporus* ser dividido em diversas espécies e clados ainda a serem determinados.

Possivelmente este será um problema para trabalhos de identificação através de cultivos dicarióticos como os propostos por Stalpers (1978) e Nobles (1948). Para as espécies do gênero *Laetiporus*, as mesmas considerações sobre a similaridade morfológica dos basidiomas deverão ser levadas em consideração para o estudo do micélio somático.

2.2.4 Análise de Neighbor-Joining (NJ) dos espécimes do Brasil

Quarenta espécimes (25 de empréstimo e 14 de coletas deste trabalho) tiveram amostras retiradas para estudo molecular. Apesar da obtenção de resultados positivos nas etapas de extração do DNA e amplificação da região ITS, apenas seis apresentaram sequências de boa qualidade (>80%). Foram elas: MAR1276/6, MAR1277/16, MAR1278/16, MAR1281/16, MAR1283/16 e FLOR52949.

Ao realizar a pesquisa de similaridade das sequências na plataforma BLAST (NCBI), todas as sequências resultantes deste trabalho concordaram (> 99%) com *Laetiporus gilbertsonii*.

As figuras 9 a 13 apresentam o resultado de análises filogenéticas feitas incluindo as sequências obtidas durante este trabalho para testar o posicionamento delas em relação a dados obtidos do GenBank (NCBI).

Para as análises utilizamos sequências representativas dos clados sugeridos por Banik e Lindner (2011), sendo eles *L. cincinnatus* (Morgan) Burds., Banik & T.J. Volk, *L. conifericola* Burds. & Banik, *L.*

gilbertsonii Burds., *L. huroniensis* Burds. & Banik, *L. sulphureus* clado E e *Laetiporus* sp. clado J (este último já conhecido como *L. caribensis* Banik & D.L. Lindner (Banik, 2012)).

Como a similaridade entre a sequência consenso de *L. gilbertsonii* e as obtidas no estudo tinham taxas maiores que 99%, sabíamos a identidade de nossos materiais e por isso tentamos testar a árvore filogenética utilizando um grupo externo diferente daquele usado pelos autores acima citados.

Ao observar a diferença macroscópica de *L. persicinus*, optamos por considerá-lo como representante de grupo externo para comparações (Figs. 9, 10 e 13) entre as sequências dentro do gênero, considerando-o um gênero à parte de *Laetiporus*.

Também testamos um número menor de sequências usando como grupo externo táxons já utilizados em trabalhos anteriores sobre o gênero como *Phaeolus schweinitzii* (Fr.) Pat. (PIRES; MOTATO-VÁSQUEZ; DE MELLO GUGLIOTTA, 2016) (Fig. 11) e *Wolfiporia dilatohypha* Ryvarden & Gilb. (LINDNER; BANIK, 2008b) (Fig. 12).

Na filogenia apresentada por Banik (2008) o autor apresenta uma hipótese sobre o posicionamento do gênero dentro do grande clado dos fungos poliporoides.. Esta hipótese sugere que *L. persicinus* e *L. portentosus* não estariam tão próximos do clado central das espécies do gênero e que *W. dilatohypha* seria grupo irmão do clado de *Laetiporus* spp.

O reflexo do distanciamento de *L. persicinus* com as outras espécies do gênero ficaram evidentes na distância representada nos ramos da árvore gerada (Fig. 9).

analisadas, porém, mantendo os cladogramas sugeridos por Banik e Lindner (LINDNER; BANIK, 2011).

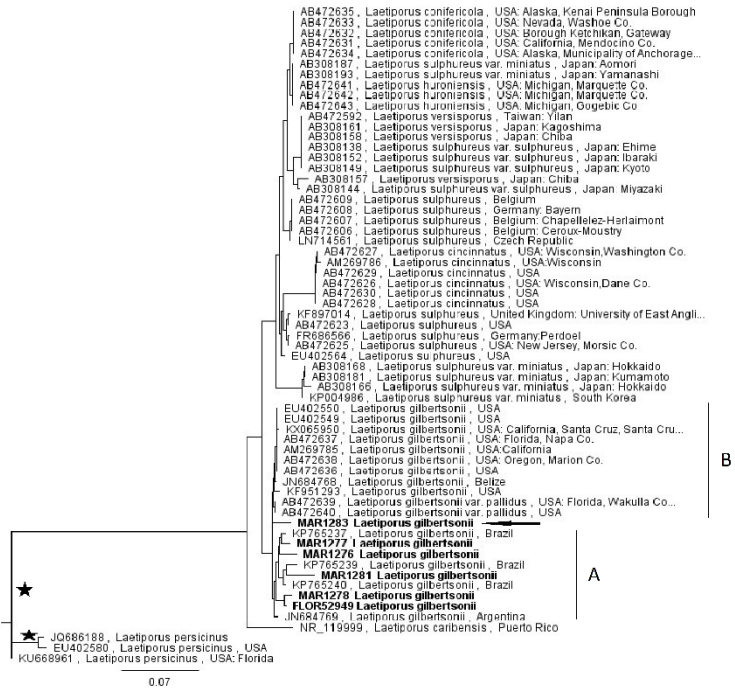


Figura 10. Árvore de Neighbor-Joining gerada com menos representantes de táxons mais distantes em relação a *Laetiporus gilbertsonii*. As estrelas indicam valores maiores que 0,05 para NJ. (Grupo externo: *Laetiporus persicinus*)

Nesta versão mais enxuta (Fig.10), *L. gilbertsonii* mostra-se monofilético, e com a distribuição dentro deste clado muito mais informativa. Dentro dele há uma divisão clara entre os espécimes, formando dois subgrupos, um deles para espécimes da América do Sul (na figura, A) e outro para a América do Norte (B).

Apenas uma das novas coletas acaba formando um polifiletismo nas relações internas do clado (seta).

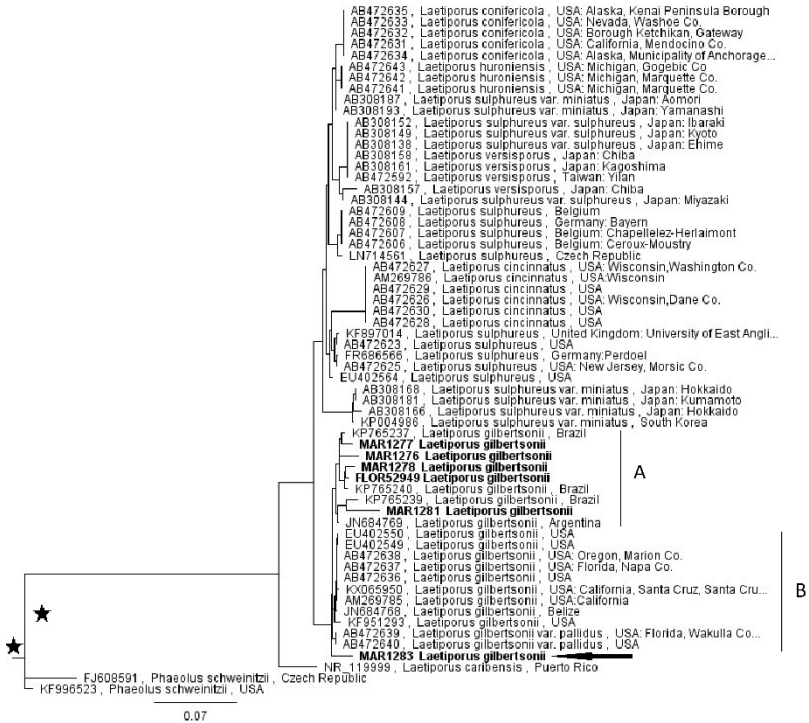


Figura 11. Árvore de Neighbor-Joining com as mesmas entradas que a anterior com mudança de grupo externo para comparação de relacionamentos dentro do gênero. (Grupo externo: *Phaeolus schweinitzii*)

Outra árvore mais enxuta foi criada utilizando *Phaeolus schweinitzii* como grupo externo (Fig. 11). O monofilétismo do clado *L. gilbertsonii* foi mantido e apenas algumas relações entre espécimes dos subgrupos (A e B) se alteraram. A coleta MAR1283 (seta) permaneceu em sua posição intermediária na topologia da árvore, tornando as relações internas dentro do clado polifiléticas.



Figura 12. Árvore de Neighbor-Joining com as mesmas entradas que a anterior com mudança de grupo externo para comparação de relacionamentos dentro do gênero. (Grupo externo: *Wolfiporia dilatohypha*)

Por fim, utilizamos como grupo externo outro táxon muito comum nas análises filogenéticas sobre o gênero, *W. dilatohypha* (Fig. 12). Todas as relações permaneceram as mesmas dentro do clado *L. gilbertsonii*. Para o gênero, esta árvore ficou mais bem definida em relação ao monofiletismo. Somente nesta árvore o clado *L. cinclinatus* (seta vermelha) ficou em uma posição que concorda com os trabalhos de Banik e Lindner (2011), assim como outros clados de *Laetiporus* distribuídos no hemisfério Norte (América do Norte, Europa e Ásia).

Estes resultados concordam com as análises de Cui e Song (SONG; CUI, 2017) que propõem uma hipótese da biogeografia para o gênero. Neste trabalho os autores discutem a possibilidade de que *L. gilbertsonii* tem como centro de dispersão os Estados Unidos seguido de migração para o Sul do continente americano. A formação de clados distintos (na figura, A e B) entre as duas partes do continente pode ser o indicativo para a diferenciação entre as populações pertencentes a esta espécie.

Assim como nas outras análises, a coleta MAR1283 (seta) também não se reúne com o subgrupo da América do Sul. Porém, neste teste, o espécime não cria um polifiletismo nas relações de dentro do clado, mas mostra uma história de divergência mais recente do que os grandes subgrupos (A e B) em *L. gilbertsonii*.

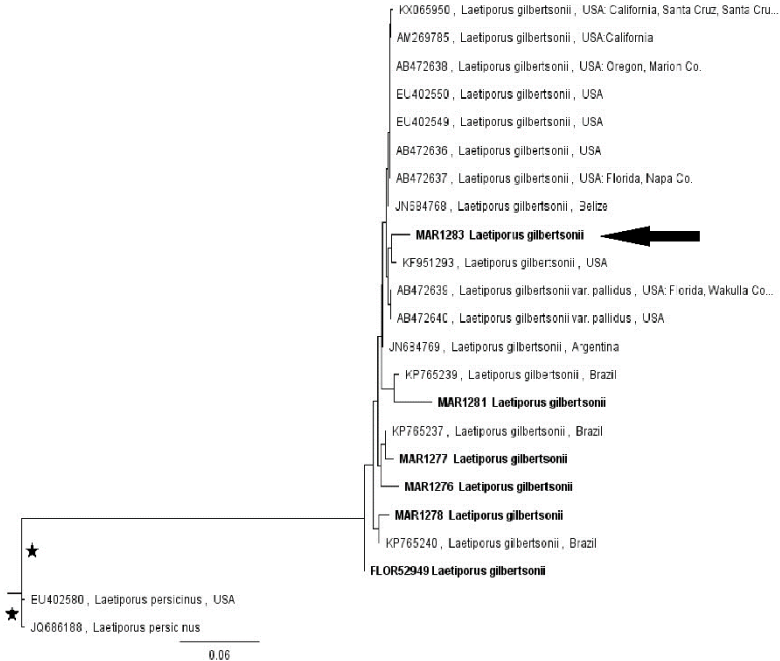


Figura 13. Árvore de Neighbor-Joining criada para ver a relação entre espécimes dentro do clado para *Laetiporus gilbertsonii*. (Grupo externo: *Laetiporus persicinus*)

Por fim, também realizamos um teste de relacionamento apenas entre as sequências dentro do clado *L. gilbertsonii* (Fig. 23). Apesar de não ser tão informativa sobre a distribuição geográfica como a árvore anteriormente discutida, por causa do seu grande parafiletismo para este caractere, a relação de MAR1283 (seta) com espécimes identificados como *L. gilbertsonii* var. *pallidus* pode ser interessante. Entre todas as coletas com prefixo MAR, feitas todas no mesmo dia, na mesma localidade, esta tem uma aparência mais clara, tanto da parte superior do píleo alaranjado como no himenóforo amarelo cítrico.

A variação de certas características, especialmente em relação à cor já foram discutidas em trabalhos prévios sobre o gênero (BANIK et al., 2010a, 2012; BANIK; BURDSALL, 2000; BANIK; BURDSALL; VOLK, 1998; BURDSALL; BANIK, 2001; LINDNER; BANIK, 2008b).

3 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este trabalho conseguiu realizar uma revisão de material de herbário, indicando novas identificações para aqueles materiais com informações completas de hospedeiro. Todos os espécimes identificados como *L. sulphureus* e que estavam em *Eucalyptus* spp. foram redeterminados em *L. gilbertsonii*.

Alguns espécimes não apresentavam características morfológicas para *Laetiporus*. Estes materiais serão analisados e se uma nova identificação for alcançada, elas serão informadas ao herbário de origem.

Os estudos de materiais de coleções mostraram a importância de um depósito com a maior quantidade de informações possíveis sobre um fungo. O hospedeiro ou substrato em que eles crescem é essencial para uma identificação correta. Mesmo com ferramentas modernas como as da biologia molecular, ainda dependemos destas informações extremamente importantes. Sem elas, fica impossível dizer algo sobre um organismo utilizando apenas materiais desidratados guardados nestas coleções.

As coletas feitas em Santa Catarina também contribuíram com informações interessantes sobre o fungo estudado. *Laetiporus gilbertsonii* parece ser uma espécie muito comum em ambientes urbanizados. A periodicidade e sincronia no aparecimento dos basidiomas também foi outro fator surpreendente. Se em um tronco começava a surgir o basidioma, bastava buscar outros hospedeiros já conhecidos para encontrar mais basidiomas se formando.

Além disso, duas coletas ainda devem ser estudadas pois foram encontradas em árvores nativas como hospedeiros. Como a definição entre espécies dentro do gênero *Laetiporus* tem uma relação muito grande com os hospedeiros em que os espécimes são encontrados, estas coletas levantam questões importantes. Uma delas é a possibilidade de existirem novas espécies para a ciência, ou até mesmo uma invasão biológica em que o fungo esteja mudando de hospedeiro, se adaptando às condições locais.

O estudo de culturas foi muito importante para a estruturação de uma coleção de culturas vivas mais organizada no laboratório de micologia. A possibilidade de acompanhar o crescimento da fase somática do fungo levantou importantes questões sobre como é importante conhecer todo o ciclo de vida de um fungo e não delegar apenas ao estudo das estruturas reprodutivas para fins taxonômicos.

As culturas cultivadas para este trabalho tiveram as mesmas características propostas na chave de identificação de Stalpers (1978) e Nobles (1948). Porém, estes estudos foram feitos antes da modificação da circunscrição do gênero. *Laetiporus* era um gênero monoespecífico e, portanto, para abarcar toda a diferença hoje reconhecida entre as espécies seriam necessários novos estudos comparativos para construir uma chave de identificação mais correta.

O objetivo principal deste trabalho era elucidar a distribuição do gênero com base nos registros para o Brasil. Como o problema deste gênero é a sua diferenciação entre espécies através de caracteres morfológicos, esperava-se resolver o problema com as técnicas de biologia molecular através da sequência de código de barras de fungos, a região ITS.

Além do problema inerente em relação à delimitação das espécies de *Laetiporus*, faltaram informações essenciais sobre o hospedeiro em que foram coletados os espécimes encontrados no Brasil.

As sequências obtidas possibilitaram levantar hipóteses sobre o posicionamento de coletas de Florianópolis e de um material herborizado de *L. gilbertsonii* frente a espécimes do mundo todo.

As análises corroboram com a hipótese de que *L. gilbertsonii* teve origem nos Estados Unidos e suas populações se espalharam pelo continente americano.

Outros dados devem ser levantados e mais coletas devem ser realizadas para que conclusões mais robustas possam ser delineadas. Durante esse trabalho os procedimentos de sequenciamento foram um obstáculo e possivelmente com uma melhora nos protocolos esse problema possa ser superado em trabalhos futuros. Da mesma forma, o baixo sucesso da obtenção de sequências de espécimes herborizados pode ser melhorado com o desenvolvimento de outros protocolos. Não houve tempo hábil durante esse trabalho para repetir os procedimentos de biologia molecular.

REFERÊNCIAS

- ALQUINI, G. et al. Polysaccharides from the fruit bodies of the basidiomycete *Laetiporus sulphureus* (Bull.: Fr.) Murr. **FEMS Microbiology Letters**, v. 230, n. 1, p. 47–52, 2004.
- ARORA, D. **Mushrooms demystified : a comprehensive guide to the fleshy fungi**. [s.l.] Ten Speed Press, 1986.
- BANIK, M. T. et al. Relationships among North American and Japanese *Laetiporus* isolates inferred from molecular phylogenetics and single-spore incompatibility reactions. **Mycologia**, v. 102, n. 4, p. 911–917, 2010a.
- BANIK, M. T. et al. Relationships among North American and Japanese *Laetiporus* isolates inferred from molecular phylogenetics and single-spore incompatibility reactions. **Mycologia**, v. 102, n. 4, p. 911–917, 20 jul. 2010b.
- BANIK, M. T. et al. A new species of *Laetiporus* (Basidiomycota, Polyporales) from the Caribbean basin. **Tomo Kurtziana**, v. 37, n. 371, p. 15–21, 2012.
- BANIK, M. T.; BURDSALL, H. H. Incompatibility groups among North American populations of *Laetiporus sulphureus* sensu lato. **Mycologia**, v. 92, n. 4, p. 649–655, 2000.
- BANIK, M. T.; BURDSALL, H. H.; VOLK, T. J. Identification of groups within *Laetiporus sulphureus* in the United States based on RFLP analysis of the nuclear ribosomal DNA. v. 33, p. 9–14, 1998.
- BURDSALL, H.; BANIK, M. T. THE GENUS *LAETIPORUS* IN NORTH AMERICA. **Harvard Papers in Botany**, v. 6, n. 1, p. 43–55, 2001.
- DAVOLI, P. et al. Laetiporic acids, a family of non-carotenoid polyene pigments from fruit-bodies and liquid cultures of *Laetiporus sulphureus* (Polyporales, Fungi). **Phytochemistry**, v. 66, n. 7, p. 817–823, 2005.
- DENTINGER, B. T. M.; MARGARITescu, S.; MONCALVO, J. M. Rapid and reliable high-throughput methods of DNA extraction for use in barcoding and molecular systematics of mushrooms. **Molecular Ecology Resources**, v. 10, n. 4, p. 628–633, 2010.
- ENDERSBY, J. Lumpers and Splitters: Darwin, Hooker, and the Search for Order. **Science**, v. 326, n. 5959, 2009.
- ERICSSON, D. C. B.; IVONNE, J. N. R. Sterol composition of the macromycete fungus *Laetiporus sulphureus*. **Chemistry of Natural Compounds**, v. 45, n. 2, p. 193–196, 2009.
- GARNETT, S. T.; CHRISTIDIS, L. Taxonomy anarchy hampers conservation. **Nature**, v. 546, n. 7656, p. 25–27, 31 maio 2017.
- ISAAC, N. Taxonomic inflation: its influence on macroecology and conservation. **Trends in Ecology & Evolution**, v. 19, n. 9, p. 464–469, set. 2004.

- KANG, C. Y. et al. An antitumor component of *Laetiporus sulphureus* and its immunostimulating activity. **Archives of Pharmacal Research**, v. 5, n. 2, p. 39–43, 1982.
- KARTAL, S. N. et al. Bioremediation of CCA-treated wood by brown-rot fungi *Fomitopsis palustris*, *Coniophora puteana*, and *Laetiporus sulphureus*. **Journal of Wood Science**, v. 50, n. 2, p. 182–188, 2004.
- KEARSE, M. et al. Geneious Basic: An integrated and extendable desktop software platform for the organization and analysis of sequence data. **Bioinformatics**, v. 28, n. 12, p. 1647–1649, 2012.
- LEAR, M. J. et al. Laetirobin from the parasitic growth of *Laetiporus sulphureus* on *Robinia pseudoacacia*. **Journal of Natural Products**, v. 72, n. 11, p. 1980–1987, 2009.
- LEE, J. W. et al. Purification and characterization of a thermostable xylanase from the brown-rot fungus *Laetiporus sulphureus*. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v. 107, n. 1, p. 33–37, 2009.
- LÉON, F. et al. Lanostanoid triterpenes from *Laetiporus sulphureus* and apoptosis induction on HL-60 human myeloid leukemia cells. **Journal of Natural Products**, v. 67, n. 12, p. 2008–2011, 2004.
- LINDNER, D. L.; BANIK, M. T. Molecular phylogeny of *Laetiporus* and other brown rot polypore genera in North America. **Mycologia**, v. 100, n. 3, p. 417–430, 2008a.
- LINDNER, D. L.; BANIK, M. T. Molecular phylogeny of *Laetiporus* and other brown rot polypore genera in North America. **Mycologia**, v. 0, n. 3, p. 417–430, 2008b.
- LINDNER, D. L.; BANIK, M. T. Molecular phylogeny of *Laetiporus* and other brown rot polypore genera in North America. **Mycologia**, v. 100, n. 3, p. 417–430, 2008c.
- LINDNER, D. L.; BANIK, M. T. Intragenomic variation in the ITS rDNA region obscures phylogenetic relationships and inflates estimates of operational taxonomic units in genus *Laetiporus*. **Mycologia**, v. 103, n. 4, p. 731–740, 2011.
- MILLER, O. **Mushrooms in color**. [s.l.] Dutton, 1981.
- NEVES, M.A.; LOGUERCIO-LEITE, C. Cultural characteristics and taxonomy of some polypores (Aphyllphorales) from Santa Catarina Island, SC, Brazil. **Mycotaxon**, n. 70, p. 193–202, 1999.
- NEVES, M. A. **Biotemas**. [s.l.: s.n.]. v. 11
- NOBLES, M. STUDIES IN FOREST PATHOLOGY: VI. IDENTIFICATION OF CULTURES OF WOOD-ROTTING FUNGI. **Canadian Journal of Research**, v. 26, p. 281–431, 1948.
- OLENNIKOV, D. N. et al. Melanin of *Laetiporus sulphureus* (Bull.: Fr.) Murr sterile form. **Applied Biochemistry and Microbiology**, v. 47, n. 3, p. 298–303, 2011.
- OLENNIKOV, D. N.; TANKHAEVA, L. M.; AGAFONOVA, S. V.

- Antioxidant components of *Laetiporus sulphureus* (Bull.: Fr.) Murr. fruit bodies. **Applied Biochemistry and Microbiology**, v. 47, n. 4, p. 419–425, 2011.
- PIRES, R. M.; MOTATO-VÁSQUEZ, V.; DE MELLO GUGLIOTTA, A. A new species of *Laetiporus* (Basidiomycota) and occurrence of *L. gilbertsonii* Burds. in Brazil. **Nova Hedwigia**, v. 102, n. 3, p. 477–490, 1 maio 2016.
- PLESZCZYŃSKA, M. et al. Successful large-scale production of fruiting bodies of *Laetiporus sulphureus* (Bull.: Fr.) Murrill on an artificial substrate. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 29, n. 4, p. 753–758, 2013.
- RAPIOR, S. et al. Volatile composition of *Laetiporus sulphureus*. **Cryptogamie, Mycologie**, v. 21, n. 1, p. 67–72, 2000.
- ROMANO, E.; BRASILEIRO, A. C. M. Extração de DNA de plantas. **Biotechnology: Ciência & Desenvolvimento**, 2(9), p. 40–43, 1998.
- SACCARDO, P. A. **Sylloge Fungorum 6: i-ii, 1-928, 1888**. Disponível em: <<http://www.cybertruffle.org.uk/cyberliber/02698/index.htm>>. Acesso em: 10 jun. 2017.
- SONG, J.; CUI, B.-K. Phylogeny, divergence time and historical biogeography of *Laetiporus* (Basidiomycota, Polyporales). **BMC Evolutionary Biology**, v. 17, n. 1, p. 102, 20 dez. 2017.
- STALPERS, J. A. **Stalpers, J.A. 1978. Identification of wood-inhabiting Aphyllophorales in pure culture. Studies in Mycology. 16:1-248.** Disponível em: <<http://www.westerdijkinstituut.nl/Collections/BioloMICS.aspx?TableKey=14682616000000061&Rec=669&Fields=All>>. Acesso em: 10 jun. 2017.
- VASAITIS, R. et al. Genetic variation and relationships in *Laetiporus sulphureus* s. lat., as determined by ITS rDNA sequences and in vitro growth rate. **Mycological Research**, v. 113, n. 3, p. 326–336, 2009.
- WEBER, R. W. S.; MUCCI, A.; DAVOLI, P. Laetiporic acid, a new polyene pigment from the wood-rotting basidiomycete *Laetiporus sulphureus* (Polyporales, Fungi). **Tetrahedron Letters**, v. 45, n. 5, p. 1075–1078, 2004.
- YOSHIKAWA, K. et al. A benzofuran glycoside and an acetylenic acid from the fungus *Laetiporus sulphureus* var. *miniatus*. **Chemical & pharmaceutical bulletin**, v. 49, n. 3, p. 327–9, 2001.