

MARINA PIRES CORRÊA DOS SANTOS

Diversidade e análise dos fatores de cultivo *in vitro* de cogumelos comestíveis silvestres *Lentinus* spp.

Dissertação apresentada ao Instituto de Pesquisas Ambientais, da Secretaria de Infraestrutura e Meio Ambiente, como parte dos requisitos exigidos para a obtenção do título de MESTRA em BIODIVERSIDADE VEGETAL E MEIO AMBIENTE, na Área de Concentração Plantas Avasculares e Fungos em Análises Ambientais.

SÃO PAULO

2023

Corrêa-Santos, Marina Pires

Diversidade e análise dos fatores de cultivo *in vitro* de
cogumelos comestíveis silvestres *Lentinus* spp.

DISS.
IPA
2023

MARINA PIRES CORRÊA DOS SANTOS

Diversidade e análise dos fatores de cultivo *in vitro* de cogumelos comestíveis silvestres
Lentinus spp.

Dissertação apresentada ao Instituto de Pesquisas Ambientais, da Secretaria de Meio Ambiente, Infraestrutura e Logística, como parte dos requisitos exigidos para a obtenção do título de MESTRA em BIODIVERSIDADE VEGETAL E MEIO AMBIENTE, na Área de Concentração de Plantas Avasculares e Fungos em Análises Ambientais.

SÃO PAULO

2023

MARINA PIRES CORRÊA DOS SANTOS

Diversidade e análise dos fatores de cultivo *in vitro* de cogumelos comestíveis silvestres
Lentinus spp.

Dissertação apresentada ao Instituto de Pesquisas Ambientais, da Secretaria de Meio Ambiente, Infraestrutura e Logística, como parte dos requisitos exigidos para a obtenção do título de MESTRA em BIODIVERSIDADE VEGETAL E MEIO AMBIENTE, na Área de Concentração de Plantas Avasculares e Fungos em Análises Ambientais.

ORIENTADOR: DR. NELSON MENOLLI JR.

Corrêa-Santos, Marina Pires

Diversidade e análise dos fatores de cultivo in vitro de cogumelos comestíveis silvestres *Lentinus* spp./ Marina Pires Corrêa dos Santos -- São Paulo, 2023. 70 p. il.

Dissertação (Mestrado) -- Instituto de Pesquisas Ambientais, Secretaria de Meio Ambiente, Infraestrutura e Logística, São Paulo, 2023

Bibliografia.

1. Domesticação 2. Mata Atlântica 3. Temperatura. I. Título.

CDU: 581.526.422.2

BANCA EXAMINADORA

Dr. Nelson Menolli Jr. (Orientador)

Dra. Ruby Vargas-Isla

Dr. Elisandro Ricardo Drechsler dos Santos

À minha bisavó, vovó e vovô que do jeitinho deles estão sempre me apoiando.

Amo vocês

*“Eu sou a continuação de um sonho, da minha mãe, do meu pai,
de todos que vieram antes mim.
Eu sou a continuação de um sonho, da minha vó, do meu vô.
Quem sangrou pra gente poder sorrir”*

BK’

AGRADECIMENTOS

Agradeço à minha família, meus pais por sempre me apoiarem e dar todo o suporte necessário para eu poder me manter focada no mestrado. Principalmente ao meu pai, que se tornou um amigo e tanto nessa caminhada. Agradeço aos meus irmãos, meus melhores amigos, que sempre tornam a vida mais leve. Agradeço aos meus avós e bisavó, que sempre têm uma boa palavra pra dizer e são os amores da minha vida. Agradeço as minhas crianças, Joaquim e Bento, eles nem sabem, mas me dão força pra poder ser a melhor pessoa que eles merecem que eu seja em todos lugares que passo. Amo vocês, família.

Agradeço à Ana Carolina, minha namorada, que me deu a mão em todos os momentos difíceis e que me senti sozinha. Obrigada por tudo, Bê! Eu não tenho palavras pra agradecer o quanto você foi importante nesta etapa e vamos juntas para as próximas. Eu te amo muito muito!

Agradeço aos colegas de laboratório por toda companhia em coletas, no laboratório e que tornam o ambiente mais leve, em especial ao Alexandre, que teve toda paciência para me ensinar a usar todos os programas de edição. Obrigada Alê! Agradeço ao meu orientador, por toda paciência e companhia nesses seis anos que estamos juntos na pesquisa. Obrigada Menolli por me apresentar este universo dos fungos e que é impossível não se apaixonar.

Agradeço ao professor Eduardo Pereira Cabral Gomes pela ajuda nas análises estatísticas deste trabalho.

Ao Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade Vegetal e Meio Ambiente pelo apoio na realização do presente estudo. Agradeço à Fapesp, pela bolsa de Mestrado concedida (Processo 2021/10878-0) e pelo apoio ao projeto “Cogumelos da Mata Atlântica: diversidade e potencialidades de espécies comestíveis” (Processo 2018/15677-0) do qual também faço parte e que abrange também a pesquisa aqui apresentada.

RESUMO

Dentre as 22 mil espécies de cogumelos conhecidas, mais de 2.000 são comestíveis e apenas 100 espécies são cultivadas mundialmente. Espécies de ocorrência natural nas matas brasileiras podem ser bastante promissoras para estudos de cultivo e futura inserção no mercado nacional de cogumelos comestíveis. Dessa forma, o objetivo deste trabalho é conhecer a diversidade de espécies do gênero *Lentinus* que ocorrem principalmente em áreas de Mata Atlântica e investigar os fatores de cultivo *in vitro* em meio de cultura e em substrato de cultivo. Os isolados foram obtidos a partir de espécimes coletados principalmente em áreas da Mata Atlântica do Sudeste do país e do Pantanal. A identificação dos isolados do gênero *Lentinus* foi certificada por meio da amplificação e sequenciamento da região intergênica ITS (*barcoding* para fungos) do DNAr. Os isolados identificados foram cultivados em meio de cultura BDA e submetidos a testes de crescimento micelial e formação de biomassa em diferentes temperaturas (25 °C, 30 °C, 35 °C, 40 °C e 45 °C). Os isolados com melhor desempenho em meio de cultura foram crescidos em dois substratos (serragem de eucalipto e palha de arroz) para determinação da velocidade de crescimento *in vitro* em substrato de cultivo sob a melhor temperatura do teste em meio de cultura. Foram identificadas duas espécies (*L. concavus* e *L. scleropus*), além de isolados que correspondem a dois complexos de espécies: complexo *L. berteroi* e complexo *L. crinitus*. Os testes em meio de cultura foram realizados com um isolado de *L. concavus*, nove isolados do complexo *L. berteroi* e três isolados do complexo *L. crinitus*. Para *L. scleropus* não foi obtido isolado em cultura pura para os testes *in vitro*, mas sua ocorrência no Brasil foi confirmada a partir de estudos morfológicos e moleculares. A melhor temperatura para crescimento em meio de cultura das três espécies foi 35 °C e o tempo de colonização das placas foi três dias para *L. berteroi* e *L. crinitus* e quatro dias para *L. concavus*. Para o teste de substrato foram selecionados os isolados que tiveram melhor resultado em meio de cultura, e a melhor velocidade de crescimento micelial foi verificada no substrato à base de palha de arroz para as três espécies, sendo testados o isolado CCIBt3009 do complexo *L. berteroi*, o isolado NMJ430 de *L. concavus* e o isolado MPC96 do complexo *L. crinitus*. Apesar do crescimento mais acelerado no substrato à base de palha de arroz, o isolado CCIBt3009 do complexo *L. berteroi* formou basidiomas apenas no substrato à base de serragem de eucalipto. Os demais isolados testados nos substratos de cultivo não formaram basidiomas. A pesquisa sobre o potencial de cultivo de cogumelos silvestres pode levar à novas descoberta de espécies e isolados com maior produtividade e melhor adaptados às condições de habitat local do que as linhagens exóticas de espécies comestíveis comercializadas.

Palavras-chave: domesticação, Mata Atlântica, temperatura.

ABSTRACT

Among the 22,000 known species of mushrooms, more than 2,000 are edible and only 100 species are cultivated worldwide. Species occurring naturally in the Brazilian forests can be very promising for cultivation studies and future insertion in the national market of edible mushroom. Therefore, the objective of this work is to know the diversity of species of the genus *Lentinus* that occur in areas of the Atlantic Forest and to investigate the *in vitro* factors of cultivation in culture medium and cultivation substrates. The isolates were obtained from specimens found in areas of the Atlantic Forest in the Southeast of the country and Pantanal. The identification of the isolates of the genus *Lentinus* was certified through amplification and sequencing of the ITS intergenic region (barcoding for fungi) of the rDNA. The identified isolates were cultivated in PDA culture medium and evaluated on mycelial growth and biomass formation tests at different temperatures (25 °C, 30 °C, 35 °C, 40 °C, and 45 °C). The isolates with the best performance in culture medium were cultivated in two substrates (eucalyptus sawdust and rice straw) to determine the *in vitro* growth rate in substrates for cultivation under the best temperature tested in culture medium. Two species were identified (*L. concavus* and *L. scleropus*), in addition to isolates that include two species complexes: *L. berteroi* complex and *L. crinitus* complex. Tests in culture medium were performed with one isolate of *L. concavus*, nine isolates of the *L. berteroi* complex, and three isolates of the *L. crinitus* complex. *Lentinus scleropus* was not isolated in pure culture for *in vitro* tests, but its occurrence in Brazil was confirmed through morphological and molecular studies. The best temperature for the three species was 35 °C and the plate colonization time was three days for *L. berteroi* and *L. crinitus* and four days for *L. concavus*. For the substrate test, the strains that had the best results in the culture media test were selected, and the best mycelial growth rate was verified in the rice straw-based substrate for the three species, with the tests conducted for the isolate CCIBt3009 of the *L. berteroi* complex., the isolate NMJ430 of *L. concavus*, and the isolate MPC96 of the *L. crinitus* complex. Despite the faster growth in the rice straw-based substrate, the isolate CCIBt3009 of *L. berteroi* complex formed basidiomata only in the eucalyptus sawdust-based substrate. The other isolates tested under the substrates for cultivation did not develop basidiomata. Research on the potential for cultivating of wild mushrooms could lead to the discovery new species and isolates with higher productivity and better adapted to local habitat conditions than exotic strains of commercialized edible species.

Key words: domestication, Atlantic Forest, temperature

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Culturas recuperadas para os testes de temperatura e substratos.

Tabela 2: Comparação por similaridade das sequências de ITS obtidas com sequências do GenBank.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Áreas de amostragem das coletas realizadas e origem das culturas recuperadas da CCIBt para este trabalho. Fonte: Google Earth

Figura 2: Árvore filogenética do gênero *Lentinus* baseada em sequências de ITS e no método de Máxima Verossimilhança (MV). As sequências em negrito representam as sequências geradas neste trabalho. Os números à frente do nome das espécies de cada clado colapsado representam os números de sequências amostradas para este clado. Os números acima dos ramos representam valor de *bootstrap* $\geq 70\%$. Os ramos com traço espesso representam valor de *bootstrap* igual a 100%. As seções indicadas são com base em Pegler (1983) para *Lentinus* subg. *Lentinus*.

Figura 3: Representante de *Lentinus concavus* coletado no Parque Estadual da Ilha do Cardoso – Núcleo Perequê. **A-B.** MPC506. **Fotos:** Corrêa-Santos, M.P.

Figura 4: Representante de *Lentinus scleropus* coletado no Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de São Paulo. **A-B.** MPC538. **Fotos:** Pimentel, L.

Figura 5: Representantes do complexo de espécies *Lentinus berteroi*. **A.** DAZ143. **B.** MPC517. **C.** MPC584. **D.** MPC588. **E.** MPC592. **F.** MPC595. **G.** MPD248. **H.** MPD367. **Fotos:** B, C, D, E, F, G – Corrêa-Santos, M.P.; G – Drewinski, M.P.; A – Zabin, D.A. **Locais de coleta:** **A.** Bairro dos Pires – Limeira; **B.** Ilha Bela – Trilha do Bonete; **C-F.** Parque Estadual da Serra do Mar – Núcleo Caraguatatuba. **G.** Parque Estadual Turístico do Alto da Ribeira – Núcleo Santana. **H.** Ilha do Cardoso – Núcleo Marujá

Figura 6: Representantes de ‘*L. crinitus* complex’. **A-B.** MPC543; **C.** MPC574; **D.** MPC583; **E.** MPC586; **F.** MPC591; **G.** MPC596; **H.** NCC132. **Fotos:** **A:** Menolli Jr, N.; **C-G:** Corrêa-Santos, M.P.; **B, H:** Nascimento, C. C. **Locais de coleta:** **A.** Parque Estadual Turístico do Alto da Ribeira- Núcleo Santana, trilha do Rio Betari; **B.** Fazenda Bananal; **C.** Parque Estadual da Cantareira – Núcleo Pedra Grande, Trilha da Bica; **D.** Ilhabela – Trilha do Bonete; **E.** Parque Estadual Fontes do Ipiranga; **F.** Parque Estadual da Serra do Mar – Núcleo Caraguatatuba; **G.** Parque Estadual da Serra do Mar – Núcleo Caraguatatuba, Trilha Jequitibá. **H.** Instituto Federal de Ciência, Educação e Tecnologia de São Paulo.

Figura 7: Crescimento micelial de nove isolados silvestres de ‘*Lentinus berteroi* complex’ no terceiro dia de incubação em meio de cultura BDA sob diferentes temperaturas. **A.** Diâmetro micelial (mm). **B.** Peso seco micelial (mg). Letras minúsculas comparam diferentes isolados em uma mesma faixa de temperatura. Letras maiúsculas comparam o mesmo isolado em diferentes faixas de temperatura. Letras maiúsculas sublinhadas comparam as médias gerais de todos os isolados em diferentes faixas de temperatura. As médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. A ausência de letras minúsculas sobre as barras indica diferença não significativa.

Figura 8: Crescimento micelial acumulativo do isolado silvestre CCIBt3009 de ‘*Lentinus berteroi* complex’ em substratos à base de serragem de eucalipto e à base de palha de arroz. Letras maiúsculas comparam o crescimento micelial no décimo dia em diferentes substratos. As médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

Figura 9: Crescimento micelial em substrato de cultivo e formação de basidiomas do isolado

silvestre CCIBt3009 de '*Lentinus berteroi* complex'. **A.** Crescimento micelial em substrato à base de palha de arroz no 10º dia à temperatura de 35 °C. **B.** Crescimento micelial em substrato à base de serragem de eucalipto no 13º dia à temperatura de 35 °C. **C-D.** Formação de primórdio após 20 dias na câmara de cultivo. **E-F.** Basidioma em ponto de colheita após cinco dias da aparição dos primórdios. Fotos: Corrêa-Santos, M.P.

Figura 10: Crescimento micelial em meio BDA no quarto dia do isolado silvestre NMJ430 de *Lentinus concavus*. (A) 25 °C. (B) 30 °C. (C) 35 °C. (D) 40 °C. (E) 45 °C. Barras de escala = 3 cm. Fotos: Corrêa-Santos, M.P.

Figura 11: Crescimento micelial do isolado silvestre NMJ430 de *Lentinus concavus* no 4º dia de incubação em meio de cultura BDA a diferentes temperaturas. A. diâmetro micelial (mm). B. Peso seco micelial (mg). Letras minúsculas comparam o isolado em diferentes temperaturas. As médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

Figura 12: Crescimento micelial acumulativo do isolado silvestre NMJ430 de *Lentinus concavus* em substratos à base de serragem de eucalipto e à base de palha de arroz. Letras maiúsculas comparam o crescimento micelial no nono dia em diferentes substratos. As médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

Figura 13: Crescimento micelial em substrato de cultivo do isolado silvestre NMJ430 de *Lentinus concavus*. (A) Substrato à base de palha de arroz no 9º dia à temperatura de 35 °C; (B) Substrato à base de serragem de eucalipto no 13º dia à temperatura de 35 °C. Barras de escala = 3 cm. Fotos: Corrêa-Santos, M.P.

Figura 14: Crescimento micelial de cinco isolados silvestres de '*Lentinus crinitus* complex' no terceiro dia de incubação em meio de cultura BDA a diferentes temperaturas. A. Diâmetro micelial (mm). B. Peso seco micelial (mg). Letras minúsculas comparam diferentes isolados em uma mesma faixa de temperatura. Letras maiúsculas comparam o mesmo isolado em diferentes faixas de temperatura. Letras maiúsculas sublinhadas comparam as médias gerais de todos os isolados em diferentes faixas de temperatura. As médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. As ausências de letras minúsculas sobre as barras indicam diferenças não significativas.

Figura 15: Crescimento micelial em meio BDA no terceiro dia do isolado silvestre MPC96 de '*Lentinus crinitus* complex'. (A) 25 °C. (B) 30 °C. (C) 35 °C. (D) 40 °C. (E) 45 °C. Barras de escala = 3 cm. Fotos: Corrêa-Santos, M.P.

Figura 16: Crescimento micelial acumulativo do isolado silvestre MPC96 de '*Lentinus crinitus* complex' em substratos à base de serragem de eucalipto e à base de palha de arroz. Letras maiúsculas comparam o crescimento micelial no décimo quinto dia em diferentes substratos. As médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

Figura 17: Crescimento micelial em substrato de cultivo do isolado silvestre MPC96 de '*Lentinus crinitus* complex'. (A) Substrato à base de palha de arroz no 15º dia à temperatura de 40 °C. (B) Substrato à base de serragem de eucalipto no 21º dia à temperatura de 40 °C. Barras de escala = 3 cm. Fotos: Corrêa-Santos, M.P.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	16
2	MATERIAL E MÉTODOS	23
2.1	Coleta e Isolamento	23
2.2	Estudos Moleculares e Identificação.....	24
2.3	Crescimento e Biomassa Micelial em Meio de Cultura	25
2.4	Velocidade de Crescimento Micelial em Substrato de Cultivo – <i>in vitro</i>	25
2.5	Análises Estatísticas.....	26
3	RESULTADOS	27
3.1	Coleta e Isolamento	27
3.2	Estudos Moleculares e Identificação.....	27
3.3	Crescimento e Biomassa Micelial em Meio de Cultura e em Substrato de Cultivo	37
3.3.1	‘ <i>Lentinus berteroi</i> complex’	37
3.3.2	<i>Lentinus concavus</i>	40
3.3.3	‘ <i>Lentinus crinitus</i> complex’	42
4	DISCUSSÃO.....	46
5	CONSIDERAÇÕES FINAIS	51
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	51
	APÊNDICE	62

1 INTRODUÇÃO

Uma estimativa recente trouxe o dado de que devem existir de 1,5 a 6,3 milhões de espécies de fungos no mundo (Niskanen *et al.* 2017), sendo que aproximadamente 148 mil espécies são conhecidas atualmente (Antonelli *et al.* 2020). Dentre essas 148 mil espécies, estão incluídos os cogumelos, que representam um grupo de fungos que desenvolve estruturas de reprodução macroscópicas e estão presentes, principalmente, em dois filos do reino Fungi: Basidiomycota e Ascomycota. Estima-se a existência de cerca de 22 mil espécies de cogumelos (Hawksworth 2001), sendo 2.189 sabidamente comestíveis e pertencentes a 56 gêneros (Li *et al.* 2021), o que representa cerca de 10% das espécies de cogumelos conhecidas.

No Brasil, já foram listadas 7.696 espécies de fungos, tendo na Mata Atlântica o maior número de registro de espécies, principalmente na região Nordeste (Fungos 2023). No que tange à diversidade de espécies de macrofungos em áreas de Mata Atlântica do Brasil, há o registro de aproximadamente 988 espécies das ordens Agaricales e Polyporales (Fungos 2023), que representam as ordens de Basidiomycota que incluem a maioria dos macrofungos e das espécies comestíveis de cogumelos (Boa 2004, Li *et al.* 2021). Esses números, porém, podem ser bem maiores, mas devido ao pouco investimento à pesquisa da biodiversidade brasileira fora da região costeira do Brasil (Magnusson *et al.* 2016), ainda pouco se sabe sobre a diversidade desses organismos nas regiões mais ao norte do país.

O consumo mundial de cogumelos aumentou significativamente nas últimas décadas, sendo que a proporção de consumo que era, até 1997, de 1 kg pessoa/ano, passou, no ano de 2017, para 4,7 kg pessoa/ano (Royse *et al.* 2017). A indústria mundial de cogumelos movimentou, aproximadamente, 63 bilhões de dólares em 2013, sendo que a principal fonte dessa renda advém dos cogumelos comestíveis cultivados, que representam 54% desse valor, seguida dos medicinais, com 38%, e dos silvestres, com 8% (Royse *et al.* 2017).

A fungicultura no Brasil ainda é uma atividade em expansão. O estado de São Paulo é o lugar onde mais consome e produz cogumelos comestíveis no país, com mais de 500 produtores espalhados por 93 municípios do estado e que ofertam, em sua maioria, três grupos de cogumelos comestíveis: *Agaricus bisporus* (J.E. Lange) Pilát, conhecido como *Champignon* ou *Portobello*; *Lentinula edodes* (Berk.) Pegler, conhecido como *Shiitake*; e as espécies do gênero *Pleurotus* (Fr.) P. Kumm, conhecidas no Brasil como *Shimeji*, *Hiratake* ou *Eryngii* (Gomes *et al.* 2016, Ishikawa *et al.* 2017). Por mais que haja um aumento no consumo e no desenvolvimento do setor de fungicultura no país, ainda é pouco discutida e explorada a possibilidade de cultivar espécies de cogumelos comestíveis silvestres nativas ou de ocorrência natural nas matas brasileiras (Ishikawa *et al.* 2017).

Os cogumelos silvestres, aqueles que ocorrem naturalmente nas matas, vêm sendo coletados e consumidos pelas populações do mundo há milhares de anos (Boa 2004). Civilizações antigas do Oriente e Ocidente europeu já consumiam cogumelos antes do nascimento de Cristo e, nos dias de hoje, os cogumelos ainda são bastante importantes para alimentação e como fonte de renda (Boa 2004).

No Brasil, por outro lado, muito do conhecimento sobre cogumelos comestíveis silvestres foi adquirido diretamente de comunidades indígenas (Fidalgo *et al.* 1967, 1986, Prance *et al.* 1973) ou a partir de compilados de estudos etnomicológicos, como o de Vargas-Isla *et al.* (2013), que reuniu o conhecimento de doze grupos étnicos da Amazônia que consomem e coletam cogumelos. Vários grupos Yanomami já foram estudados com relação ao consumo de cogumelos comestíveis silvestres e, de acordo com Vargas-Isla *et al.* (2013), existe o registro de 34 espécies de cogumelos comestíveis utilizadas pelos povos indígenas da Amazônia. Além dessas 34 espécies, Sanuma *et al.* (2016) trouxeram o registro de mais sete espécies nunca antes reportadas como alimento para a comunidade Yanomami da Amazônia brasileira.

No estado de São Paulo, cerca de 90 espécies de cogumelos comestíveis silvestres já foram registradas, sendo pelo menos 12 delas, aquelas relacionadas aos gêneros de cogumelos já cultivados comercialmente, com potencial de cultivo (Ishikawa *et al.* 2017). Além dos conhecimentos tradicionais, recentemente foram lançados guias de cogumelos que ocorrem naturalmente no país com indicação de espécies comestíveis, como os livros “Fancs de Angatuba”, primeira e segunda edições (Trierweiler-Pereira 2019, 2022), Primavera Fungi: guia de fungos do Sul do Brasil, primeira e segunda edições (Timm 2018, 2021), o guia de coleta “Primavera Fungi: Cogumelos Comestíveis no Brasil” (Timm 2022) e o livro “Cogumelos comestíveis nativos no Distrito Federal” (Santos 2017).

Dentre os 56 gêneros de macrofungos comestíveis listados por Li *et al.* (2021) e cujas espécies ocorrem no Brasil, damos destaque ao gênero *Lentinus* Fr., que inclui espécies de distribuição tropical e 30 espécies comestíveis (Li *et al.* 2021), o que representa 54% das espécies conhecidas para o gênero, de acordo com os números de He *et al.* (2019).

Fries (1821) inicialmente separou 12 espécies como subtribo, *Lentiscyphi* Fr., de *Agaricus* Fr. tribo *Omphalia* Fr. com base na sua textura dura e coreácea. Esta tribo formou a base para o gênero *Lentinus*, descrito em 1825 por Elias Magnus Fries (Fries 1825) e inicialmente considerado na família *Tricholomataceae* R. Heim ex Pouzar devido a seus representantes apresentarem esporada branca e himenóforo lamelar (Miller 1973). Rolf Singer (1951), introduziu características da trama do himenóforo e das camadas sub-himeniais em

sua descrição de *Lentinus*, sabendo que ambas são úteis na classificação dos fungos agaricoides. Singer (1961), aceitando a afinidade com *Polyporus* P. Micheli, transferiu da família *Tricholomataceae* para a família *Polyporaceae* Fr. ex Corda o gênero *Lentinus* e demais gêneros da tribo *Lentineae* Imai (*Phyllotopsis* E.-J. Gilbert & Donk ex Singer, *Pleurotus*, *Panus* Fr., *Geopetalum* Singer), mas considerando tais táxons em *Agaricales* Underw.

Pegler (1971, 1972, 1975) desenvolveu essa abordagem mas aceitando *Polyporaceae*, incluindo a tribo *Lentineae*, dentro da ordem *Aphyllophorales* e usando a constituição hifal do basidioma como base para a segregação genérica. Pegler (1971, 1975) mostrou que algumas espécies de *Lentinus* possuíam uma construção hifal dimítica, com hifas generativas e ligativas de complexidade variável, às vezes aproximando-se de um sistema trimítico, ao contrário de grande parte dos membros de *Agaricales* que são tipicamente monomíticos, compostos unicamente por hifas generativas. Kuhner (1980) também considerou o valor dos sistemas de hifas como base para classificação, mas preferiu reconhecer *Lentineae* como uma tribo dentro de *Pleurotaceae* Kuhn. Jülich (1982) criou a família monotípica *Lentinaceae* Jülich dentro de *Polyporales* Gaum. No entanto, anteriormente, Corner (1981), considerando espécies de *Lentinus*, *Panus* e *Pleurotus* da Malásia, empregou o sistema hifal como característica fundamental para distinção desses grupos, e os definiu como gêneros distintos, pois *Lentinus* e *Panus* apresentam sistema hifal dimítico com diferentes composições, sendo *Lentinus* caracterizado por hifas ligativas e generativas e *Panus* por hifas esqueléticas e generativas, enquanto *Pleurotus* contém principalmente hifas generativas. Porém, Pegler (1983) considerou as espécies de *Panus* no gênero *Lentinus*, que foi por ele classificado em dois subgêneros, *Lentinus* subg. *Lentinus* e *Lentinus* subg. *Panus* (Fr.) Pegler.

Desde então, a maioria dos autores (Corner 1981, Rune 1994, Redhead & Ginns 1985, Singer 1986, Grand 2004) tem considerado *Lentinus* sensu Pegler (1983) em pelo menos dois (*Lentinus* e *Panus*) ou até cinco gêneros (*Lentinus*, *Panus*, *Neolentinus* Redhead & Ginns, *Pleurotus* e *Heliocybe* Redhead & Ginns). Essas segregações foram baseadas principalmente em caracteres morfológicos, como o sistema hifal do basidioma, a ontogenia lamelar, o tipo de podridão e a presença de elementos estéreis no himênio (Corner 1981, Hibbett *et al.* 1993, Pegler 1983, Redhead & Ginns 1985, Singer 1986). Grand (2004) utilizou sequências de LSU (*Ribosomal Large Subunit*) do DNAr para determinar a relação molecular entre *Lentinus* e *Panus*, além de utilizar dados da região ITS (*Internal Transcribed Spacer*) para estudar a circunscrição e delineamento de espécies de *Lentinus*, e concluiu que *Lentinus* e *Panus* são

distintos em nível genérico com base nos dados de sequências de LSU.

De forma geral, os representantes do gênero *Lentinus* crescem solitários ou agregados e são distribuídos principalmente em regiões tropicais, sendo caracterizados macroscopicamente por apresentarem basidiomas xeromórficos, com textura firme e perene, píleo fibroso, infundibiliforme e com escamas marrons, estipe escamoso e lamelas amareladas (Pegler 1983). As espécies do gênero apresentam desenvolvimento gimnocárpico com o himenóforo se desenvolvendo externamente nos primórdios e permanecendo assim durante todo o crescimento (Pegler 1983).

O gênero *Lentinus* (= *Lentinus* subg. *Lentinus* sensu Pegler 1983) é composto por seis seções definidas principalmente por suas características morfológicas macroscópicas: *Lentinus* sect. *Lentinus*, *Lentinus* sect. *Tigrini* Pegler, *Lentinus* sect. *Dicholamellatae* Pegler, *Lentinus* sect. *Rigidi* Pegler, *Lentinus* sect. *Lentodiellum* (Murr.) Pegler e *Lentinus* sect. *Pleuroti* Sacc. Nessa última seção, Pegler (1983) classificou uma única espécie, a qual foi recentemente combinada no gênero *Neofavolus* Sotome & T. Hatt. por Seelan *et al.* (2015, 2016), sendo aceita atualmente como *Neofavolus suavissimus* (Fr.) Seelan, Justo & Hibbett. As demais cinco seções descritas por Pegler (1983) apresentam as seguintes características: i) *Lentinus* sect. *Lentinus* – caracterizada pela superfície do píleo pilosa-estrigosa em direção à margem, às vezes escamosa ou glabrescente no centro; ii) *Lentinus* sect. *Tigrini* – apresenta a superfície do píleo sem pelos fibrilosos, mas frequentemente com escamulas comprimidas, contexto constituído por hifas esquelético-ligativas e hifas generativas infladas, trama himenoforal de estrutura descendente, borda da lamela dentada, *hyphal pegs* presentes e basidiósporos cilíndricos; iii) *Lentinus* sect. *Dicholamellatae* – caracterizada por apresentar a superfície do píleo não pilosa, mas verrucosa-escamosa, desenvolvimento velangiocárpico, contexto constituído por hifas esquelético-ligativas e hifas generativas não infladas, trama himenoforal de estrutura radiada, *hyphal pegs* presentes ou ausentes, himenóforo furcado dicotomicamente, sem lamélulas verdadeiras e basidiósporos elipsoides a estreitamente cilíndricos; iv) *Lentinus* sect. *Rigidi* – apresenta a superfície pilear escamosa ou glabra, himenóforo não furcado, contexto constituído por hifas esquelético-ligativas e hifas generativas não infladas, himenóforo com trama radiada, presença de *hyphal pegs* e basidiósporos pequenos e pouco cilíndricos; e v) *Lentinus* sect. *Lentodiellum* – caracterizada por apresentar píleo esbranquiçado e sem escamas, himenóforo não furcado, contexto com hifas esqueleto-ligativas com ramificações reduzidas e hifas generativas não infladas, ausência de *hyphal pegs* e basidiósporos cilíndricos.

O gênero *Lentinus* apresenta características morfológicas bem próximas de alguns políporos, principalmente por conta do sistema hifal, dos basidiósporos cilíndricos a elipsoides e a presença de *hyphal pegs* (Seelan *et al.* 2015). Além disso, o himenóforo subporoide em algumas espécies (ex.: *Lentinus tigrinus* (Bull.) Fr.) sugere a possibilidade de haver um poliporoide ancestral para o grupo, como já indicado por Pegler (1983). Hibbett *et al.* (1993) realizaram um trabalho focado na ontogenia do desenvolvimento do himenóforo de *L. crinitus* (L.) Fr. e *L. tigrinus*, analisando desde a formação de primórdios até o completo desenvolvimento dos basidiomas, e notaram que o desenvolvimento do himenóforo de algumas espécies do gênero é homólogo ao de alguns políporos, mas sua morfologia difere nos estágios iniciais do desenvolvimento. Seelan *et al.* (2015), ao estudar *Lentinus*, *Polyporellus* e *Neofavolus*, afirmou que a construção mais parcimoniosa das análises filogenéticas sugere que a condição plesiomórfica do himenóforo no gênero é a presença de poros circulares.

As relações entre *Lentinus* e certos políporos são suspeitadas há muito tempo com base em características anatômicas (Corner 1981, Pegler 1983) e análises filogenéticas com amostragem diversa de diferentes espécies e marcadores moleculares (Hibbett *et al.* 1993, Tague Roland 2001, Kruger *et al.* 2008, Sotome *et al.* 2008, Grand *et al.* 2011; Sotome *et al.* 2013). Atualmente, alguns representantes antes classificados em *Polyporus* ou *Polyporellus* têm sido tratados no gênero *Lentinus* por fazerem parte do mesmo clado monofilético, tais como: *L. arcularius* (Bastsch) Zmitr., *L. brumalis* (Pers.) Zmitr., *L. ciliatus* (Fr.) Zmitr. e *L. tricholoma* (Mont.) Zmitr. (Hibbett *et al.* 1993, Kruger *et al.* 2008, Zmitrovich 2010).

Para o Brasil, das espécies de *Lentinus* com himenóforo lamelar (*Lentinus sensu stricto*), já foram registradas dez espécies nos biomas brasileiros: na Amazônia há registros de quatro espécies, *L. badius* (Berk.) Berk (Drechsler-Santos *et al.* 2008a, 2008b, Grandi *et al.* 1984, Jesus 1996), *L. concavus* (Berk.) Corner (Bononi 1992, Bononi *et al.* 2008, Fidalgo & Prance 1976, Sanuma *et al.* 2016), *L. glabratus* Mont. (Fidalgo & Prance 1976) e *L. swartzii* Berk. (Drechsler-Santos *et al.* 2012); na Caatinga há registros de *L. crinitus* e *L. swartzii* (Bononi *et al.* 1981, Bononi 1984, Bononi 1992, Bononi *et al.* 2008, Bononi *et al.* 2017, Campos *et al.* 2005, Capelari & Maziero 1988, Cavalcante *et al.* 2021, Drechsler-Santos *et al.* 2012); para o Cerrado há registros de *L. berteroi* (Fr.) Fr. e *L. crinitus* (Abrahão *et al.* 2012, Abrahão *et al.* 2019, Bononi 1984, Bononi *et al.* 1981, Bononi 1992, Bononi *et al.* 2008, Bononi *et al.* 2017, Campos *et al.* 2005, Capelari & Maziero 1988, Cavalcante *et al.* 2021, Drechsler-Santos *et al.*, 2012); a Mata Atlântica é o bioma com maior registros de espécies, incluindo *L. badius*, *L. berteroi*, *L. crinitus*, *L. patulus* Lév., *L. scleropus* (Pers.) Fr., *L.*

striatulus Lév. e *L. swartzii* (Drechsler-Santos 2008a, b, Gaudichaud-Beaupré 1827, Grandi *et al.* 1984, Hennings 1904a, b, Jesus 1996, Pereira 1988); e para o Pantanal há registros de *L. badius*, *L. concavus*, *L. crinitus* e *L. swartzii* (Fidalgo & Prance 1976, Drechsler- Santos *et al.* 2008, Bononi *et al.* 2008). Dessas dez espécies de *Lentinus* registradas para o Brasil, seis são espécies que já foram reportadas como alimento: *L. berteroi*, *L. concavus*, *L. crinitus*., *L. glabratus*, *L. scleropus*, e *L. swartzii* (Fidalgo & Prance 1976, Fidalgo & Hirata 1979, Prance 1984, Sanuma *et al.* 2016, Timm 2018).

Recentemente, Silva-Neto *et al.* (2019) realizaram estudos bromatológicos com espécimes de *L. crinitus* coletados em um sistema agroflorestal no Cerrado do Brasil e verificaram que os basidiomas apresentam um grande potencial nutricional para serem inseridos e consumidos na forma de produto de mercado, similar às espécies já comercializadas. Há também estudos com *L. crinitus* evidenciando alto potencial antioxidante (Umeo *et al.* 2015), antibiótico e antitumoral (Erkel *et al.* 1996, Wasser 2014), além dos basidiomas dessa espécie serem capaz de bioacumular lítio, o que o torna uma opção como alimento funcional bioenriquecido (Faria *et al.* 2019). Espécies de *Lentinus* têm também um grande potencial industrial para o desenvolvimento de produtos nutracêuticos, já que os espécimes silvestres geralmente possuem aminoácidos, ácidos graxos poliinsaturados, compostos fenólicos e polissacarídeos (Sharma *et al.* 2014).

Investir na domesticação de cogumelos comestíveis silvestres no Brasil apresenta um futuro bastante promissor, principalmente se considerar a grande diversidade de espécies que ainda não foram descritas ou registradas (Maki & Paccola-Meirelles 2002). A domesticação dessas espécies silvestres incentiva a produção e a comercialização de um produto nacional adaptado ao clima tropical e com potencial de competir com os cogumelos exóticos já comercializados (Maki & Paccola-Meirelles 2002).

No entanto, existem dificuldades na produção de cogumelos em clima tropical devido à origem dos cogumelos já comercializados serem de países de clima temperado da Ásia e da Europa (Vargas-Isla & Ishikawa 2008). Por esse motivo, a domesticação de cogumelos de ocorrência natural no Brasil é de extrema importância, tanto para o consumidor quanto para o produtor, uma vez que o produto poderá ser mais acessível e mais simples de ser cultivado.

Um dos principais fatores a serem estudados para o cultivo de espécies silvestres é a temperatura, que determina a distribuição dos fungos em diferentes nichos ecológicos (Magan 1997), e também o substrato, que será a fonte dos nutrientes para o fungo (Albertó 2017). A partir do estudo desses fatores, a produção e a exploração comercial de cogumelos comestíveis silvestres passam a ser viável (Maki & Paccola-Meirelles 2002). Assim, a busca por

cogumelos comestíveis silvestres agrega o valor dos povos originários em nossa cultura e alimentação e, além disso, os estudos de cultivo e domesticação de cogumelos comestíveis silvestres podem facilitar a diversificação dos hábitos alimentares e são uma forma de produção sustentável capaz de promover uma segurança alimentar necessária.

Nesse contexto, surge o objetivo deste projeto: identificar a diversidade e caracterizar os isolados de *Lentinus* spp. principalmente de áreas de Mata Atlântica do Sudeste do Brasil e do Pantanal quanto aos seguintes parâmetros de cultivo *in vitro*, temperatura e substrato de cultivo.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 COLETA E ISOLAMENTO

A partir de coletas previamente realizadas como parte de um projeto maior (Fapesp 2018/15677-0), os isolados de *Lentinus* spp. disponíveis no IFungiLab (Laboratório de Ensino, Pesquisa e Extensão em Micologia do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de São Paulo – IFSP, *Campus* São Paulo) e na Coleção de Culturas (CCIBt) do Instituto de Pesquisas Ambientais (IPA) foram recuperados para seleção de isolados viáveis para os estudos moleculares e de cultivo. Devido à similaridade macromorfológica entre representantes dos gêneros *Lentinus* e *Panus*, isolados nomeados como *Panus* também foram investigados a partir de análises moleculares para certificar a identidade genérica dos isolados que seguiram para os estudos *in vitro*. A recuperação dos isolados foi realizada a partir da transferência de um pequeno fragmento da cultura pura para placas de Petri contendo meio de cultura BDA (Batata Dextrose Ágar) e incubação a 25 °C até o completo crescimento micelial (Bononi *et al.* 1999). Os isolados que cresceram nessa condição foram selecionados para as etapas seguintes do estudo. Foram também realizadas novas coletas, em sua maioria, no domínio Mata Atlântica, mas também foram selecionadas amostras do Mato Grosso do Sul, no bioma Pantanal. Na Figura 1 estão indicados os locais de coleta e das culturas recuperadas da CCIBt.

Em campo, foram realizados registros fotográficos e anotações das características gerais dos basidiomas. Os basidiomas coletados foram desidratados em secadora de frutas (42°C) e armazenados em embalagens do tipo *ZipLock*. A partir do basidioma ainda fresco, foram retirados fragmentos do contexto do píleo ou estipe que foram então inoculados em placas de Petri contendo meio BDA estéril. As placas foram incubadas a 25 °C até o completo crescimento micelial e então as culturas puras foram mantidas em geladeira com repiques a cada trimestre (Bononi *et al.* 1999, Urban 2000).



Figura 1: Áreas de amostragem das coletas realizadas e origem das culturas recuperadas da CCIBt para este trabalho. Fonte: Google Earth

2.2 ESTUDOS MOLECULARES E IDENTIFICAÇÃO

A extração de DNA foi realizada a partir do micélio obtido em cultura líquida. O meio de cultura utilizado para o cultivo líquido foi o Caldo Batata Dextrose, que foi distribuído em Erlenmeyer (100 mL) e esterilizado em autoclave durante 15 minutos a 121°C. Após o resfriamento do meio, foram inoculados cinco fragmentos de aproximadamente 10 mm de diâmetro do micélio, provenientes do isolado em meio sólido, e incubados durante 7–12 dias em *shaker* a 26°C e 120 rpm (Vargas-Isla & Ishikawa 2008). Após o crescimento, o micélio foi filtrado em bomba de vácuo, armazenado em microtubos e congelado para futura extração.

Para a extração de DNA foi utilizado o protocolo de Doyle e Doyle (1987) modificado por Góes-Neto *et al.* (2005). A região ribossomal intergênica (rITS1-5.8S-ITS2), tida como *barcoding* para fungos, foi amplificada por meio de reações em cadeia da polimerase (PCR) com os *primers* ITS1-F e ITS4-R (White *et al.* 1990). Os produtos amplificados foram purificados e enviados para sequenciamento, usando os mesmos pares de *primers* da amplificação, no Centro de Pesquisas sobre o Genoma Humano e Células-Tronco da Universidade de São Paulo ou na Macrogen, em Seoul, Coréia do Sul.

As sequências consenso foram obtidas e editadas com auxílio do programa *Sequencher* 5.2.4 (Gene Codes Corp, USA) e então submetidas ao método de busca por

similaridade BLASTn (ncbi.nlm.nih.gov) a fim de verificar possíveis contaminações ou confirmar a identidade das culturas como sendo do gênero *Lentinus*.

Sequências de *Lentinus* disponíveis no *GenBank* foram baixadas para, juntamente com as sequências obtidas, compor a matriz de alinhamento. O alinhamento com as sequências obtidas e as sequências selecionadas do *GenBank* foi realizado no MAFFT, utilizando a estratégia de configurações avançadas E-INS-i (Katoh & Standley 2013).

As análises filogenéticas de Máxima Verossimilhança (MV) foram realizadas utilizando o programa RAxML-HPC v.8 na plataforma CIPRES *Science Gateway* 3.1 (Miller *et al.* 2011) com o modelo evolutivo GTRGAMMA e *bootstrap* (BS) de mil replicatas.

2.3 CRESCIMENTO E BIOMASSA MICELIAL EM MEIO DE CULTURA

Os isolados foram avaliados quanto à velocidade de crescimento e massa micelial em meio de cultura BDA sob diferentes temperaturas. Após o preparo do meio, foram depositados em cada placa 30 mL do meio de cultura, sobre o qual foi inoculado no centro da placa um fragmento da matriz com o micélio de cada isolado. As placas foram incubadas às temperaturas de 25 °C, 30 °C, 35 °C, 40 °C e 45 °C em estufa BOD (Bio-Oxygen Demand). A determinação do período mínimo de colonização (em dias) da placa de Petri para *L. berteroi*, ou seja, quando ocorreu a completa colonização do micélio por toda a placa de Petri em uma determinada temperatura, foi baseada no Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) da autora (Corrêa-Santos 2020). Para *L. concavus* e *L. crinitus*, a determinação do período mínimo de colonização foi feito neste trabalho, seguindo as mesmas definições de Corrêa-Santos (2020), sendo três dias para ambas as espécies. Uma vez determinado o período mínimo de colonização micelial para cada espécie, o experimento foi realizado em dez replicatas para cada isolado e cada temperatura. Para avaliação da massa micelial seca, no dia do período mínimo de colonização micelial de cada espécie em uma das temperaturas, as placas com meio de cultura foram aquecidas no micro-ondas durante 20 segundos para derreter o meio de cultura e, a partir da placa com meio liquefeito, o micélio foi filtrado em bomba de vácuo, lavado com água destilada e a biomassa micelial foi desidratada a 75 °C até peso constante para determinação da biomassa micelial seca (Vargas-Isla & Ishikawa 2008).

2.4 VELOCIDADE DE CRESCIMENTO MICELIAL EM SUBSTRATO DE CULTIVO – *IN VITRO*

Para a avaliação do crescimento micelial nos substratos de cultivo, os isolados foram

avaliados quanto à velocidade de crescimento micelial nos seguintes substratos: SE (serragem de eucalipto), e PA (palha de arroz). O substrato à base de serragem foi adquirido na empresa Yuri Cogumelos (Sorocaba, São Paulo, Brasil) que comercializa blocos para produção de shiitake e é composto por 80% de serragem de eucalipto e 20% de farelo de capim (trigo e arroz), com teor de umidade de 68%. Já o substrato à base de palha de arroz é composto com 70% de palha de arroz e 30% do substrato já úmido de serragem da empresa Yuri Cogumelos e foi acrescentado 20mL de água para umidade também chegar a 68%. Foram distribuídos 300g substrato SE em 15 frascos de vidro (600 mL) que foram fechados com tampa metálica com filtro de algodão e posteriormente esterilizados em autoclave a 121°C por duas horas. O substrato PA também foi distribuído em 15 frascos de vidro em uma proporção de 70% palha de arroz e 30% do substrato SE já úmido totalizando 80g de substrato e esterilizado em autoclave por 15 minutos a 121 °C para evitar a queima da palha de arroz (adaptado de Kalaw 2021).

Os isolados que tiveram os melhores resultados em meio de cultura em placa de Petri foram selecionados para esta etapa de crescimento em substrato. Os substratos foram inoculados com 1% de grãos de trigo miceliados, que foi dividido em três frações e inoculado em três porções na superfície dos substratos. Os frascos foram incubados em estufa BOD à temperatura ideal previamente determinada pelo teste em meio de cultura BDA e seu crescimento em profundidade foi acompanhado com medidas diárias. Depois da incubação e completa colonização, os frascos completamente colonizados foram abertos e mantidos por 90 dias em câmara de cultivo à temperatura de 25 °C, com fotoperíodo luminoso de 24 horas e umidade entre 90% e 100%, sendo umidificados continuamente para verificar a viabilidade de formação dos primórdios dos basidiomas.

2.5 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Para avaliação estatística, os dados obtidos foram submetidos ao teste de normalidade Shapiro-Wilk e então analisados usando o teste Two-way ANOVA. As médias foram comparadas pelo teste de Tukey, utilizando nível de significância de 0,05 (Vieira 1980). As análises estatísticas foram realizadas utilizando o software PAST (Bing *et al.* 2013).

3 RESULTADOS

3.1 COLETA E ISOLAMENTO

A princípio, havia disponível 84 coleções de cogumelos comestíveis dos gêneros *Lentinus* e *Panus* (Apêndice A). Dessas coleções, foram obtidos 34 isolados em cultura pura que estavam mantidos em água destilada (método Castellani, Castellani 1967) ou em placas de Petri com meio de cultura BDA mantidas na geladeira. Desses 34 isolados, 15 tiveram o micélio recuperado e continuaram viáveis para a realização dos experimentos em meio de cultura e nos substratos de cultivo (Tabela 1). Todos esses 15 isolados foram certificados quanto à identidade com base nos resultados dos estudos moleculares e identificação, conforme descrito abaixo. No Apêndice A, alguns espécimes não utilizados nos experimentos em meio de cultura e nos substratos de cultivo deste trabalho ainda estão marcados como tendo cultura pois há cultura preservada em água destilada, mas que não foi possível continuar as tentativas de recuperação de crescimento devido ao cronograma deste trabalho; essas culturas não utilizadas estão marcadas com um asterisco.

Tabela 1: Culturas recuperadas para os testes de temperatura e substrato.

Coleção	Voucher	Fuungário/herbário	Táxon
CCIBt2868	-	-	<i>Lentinus berteroi</i>
CCIBt3005	-	-	<i>Lentinus berteroi</i>
CCIBt3006	-	-	<i>Lentinus berteroi</i>
CCIBt3008	-	-	<i>Lentinus berteroi</i>
CCIBt3009	-	-	<i>Lentinus berteroi</i>
CCIBt3369	-	-	<i>Lentinus berteroi</i>
CCIBt4788	MPCS17	FIFUNGI457	<i>Lentinus berteroi</i>
CCIBt4796	MPCS88	FIFUNGI136	<i>Lentinus berteroi</i>
CCIBt4797	MPCS92	FIFUNGI151	<i>Lentinus berteroi</i>
CCIBt4792	NMJ430	FIFUNGI124	<i>Lentinus concavus</i>
CCIBt4795	MPCS74	FIFUNGI419	<i>Lentinus crinitus</i>
CCIBt4790	MPCS96	FIFUNGI153	<i>Lentinus crinitus</i>
CCIBt4791	MPD429	FIFUNGI22	<i>Lentinus crinitus</i>
CCIBt4793	NMJ456	-	<i>Lentinus crinitus</i>
CCIBt4794	NMJ357	FIFUNGI63	<i>Lentinus crinitus</i>

3.2 ESTUDOS MOLECULARES E IDENTIFICAÇÃO

A partir das 84 coleções selecionadas (Apêndice A), foram obtidas 40 sequências da região ITS, sendo 34 sequências de espécimes do gênero *Lentinus*, uma do gênero *Panus* e

cinco sequências que representam culturas de fungos contaminantes que não foram utilizadas neste trabalho (Tabela 2). A partir do resultado da busca por similaridade BLASTn dessas cinco sequências consideradas fungos contaminantes, evidenciou-se que as culturas correspondem a representantes de *Clonostachys* sp. (micélio obtido do isolamento do espécime MPD330), *Fusarium* sp. (micélio obtido do isolamento do espécime MPC594), *Tinctoporellus epimiltinus* (Berk. & Broome) Ryvarden (micélio obtido do isolamento do espécime MPC597), *Pestalotiopsis microspora* (Speg.) Bat. Peres (micélio obtido do isolamento do espécime MPC581) e *Phomopsis* sp. (micélio obtido do isolamento do espécime MPC544) (Tabela 2).

Tabela 2. Comparação por similaridade das sequências de ITS obtidas com sequências do GenBank.

Nº de coleta/Coleção	Táxon	% similaridade	Nº de acesso do GenBank
B6MICIFSP11	<i>Lentinus berteroi</i>	99,70%	MK890046
		99,70%	GU207305
		99,70%	MK036389
CCIBt2511	<i>Lentinus berteroi</i>	99,76%	MK890046
		99,76%	MK036389
		99,76%	GU207305
CCIBt2868	<i>Lentinus berteroi</i>	99,24%	MK890046
		99,22%	MK036389
		99,20%	GU207307
CCIBt3005	<i>Lentinus berteroi</i>	99,76%	MK890046
		99,76%	MK036389
		99,76%	GU207305
CCIBt3006	<i>Lentinus berteroi</i>	99,76%	MK890046
		99,76%	MK036389
		99,76%	GU207305
CCIBt3008	<i>Lentinus berteroi</i>	99,85%	MK890046
		99,84%	GU207305
		99,69%	MK036389
CCIBt3009	<i>Lentinus berteroi</i>	99,53%	MK890046
		99,51%	GU207307
		99,34%	JQ955723 (<i>L. crinitus</i>)
CCIBt3369	<i>Lentinus berteroi</i>	99,85%	MK890046
		99,84%	GU207305
		99,53%	MK036389
DAZ143	<i>Lentinus berteroi</i>	99,70%	MK408651
		99,70%	MK890046
		99,70%	MK036389
MPCS06	<i>Lentinus concavus</i>	99,55%	GU053785
		99,55%	MH915574
		99,55%	OL771748
MPCS17	<i>Lentinus berteroi</i>	100%	MK641481 (<i>Lentinus badius</i>)
		100%	MT259232 (<i>Lentinus</i> sp.)
		100%	MT252557 (<i>Lentinus squarrosulus</i>)
MPCS38	<i>Lentinus scleropus</i>	98,64%	GU207310
		98,64%	GU053785 (uncultured)
		97,97%	KX580188 (<i>L. striatulus</i>)

Nº de coleta/Coleção	Táxon	% similaridade	Nº de acesso do <i>GenBank</i>
MPCS43	<i>Lentinus crinitus</i>	99,55%	MK408649
		99,55%	MK408648
		99,55%	OQ389414
MPCS74	<i>Lentinus crinitus</i>	98,80%	MK408649
		98,80%	MK408648
		97,82%	OQ389414
MPCS83	<i>Lentinus crinitus</i>	99,08%	MK408649
		99,08%	MK408648
		98,77%	KX065949
MPCS44	<i>Phomopsis</i> sp.	99,65%	JN153052
		99,63%	HQ008910
		97,25%	LC719239
MPCS80	<i>Panus strigellus</i>	99,70%	PP102339
		99,53%	MT669137
		99,68%	JQ955724
MPCS81	<i>Pestalotiopsis microspora</i>	100,00%	MT597834
		100,00%	MT588423
		100,00%	MK050622 (<i>Neopestalotiopsis</i> sp.)
MPCS84	<i>Lentinus berteroi</i>	98,38%	MH915574
		98,21%	OK393677
		98,76%	MK036389
MPCS86	<i>Lentinus berteroi</i>	100,00%	MK408649
		100,00%	MK408648
		100,00%	MN602048
MPCS88	<i>Lentinus berteroi</i>	99,86%	MH915574
		97,05%	OK393677
		96,24%	OQ389414
MPCS91	<i>Lentinus crinitus</i>	94,67%	MK408649
		94,67%	MK408648
		94,67%	MN602049
MPCS92	<i>Lentinus berteroi</i>	98,15%	MH915574
		98,24%	OK393677
		98,79%	MK890046
MPCS94	<i>Fusarium</i> sp.	100,00%	MT093641
		100,00%	MT093638
		100,00%	EF687948
MPCS95	<i>Lentinus berteroi</i>	100,00%	MH915574
		98,31%	MN602050
		98,12%	MN602049
MPCS96	<i>Lentinus crinitus</i>	99,53%	GU207295
		99,53%	GU207291
		99,53%	KX065949
MPCS97	<i>Tinctoporellus epimiltinus</i>	99,19%	MZ621213
		99,16%	KJ654626
		99,16%	KJ654625
MPD193	<i>Lentinus concavus</i>	95,65%	GU207310
		95,64%	GU053785
		95,19%	PP102338
MPD248	<i>Lentinus berteroi</i>	99,86%	MH915574
		97,08%	OK393677
		97,57%	MK890046
MPD330	<i>Clonostachys</i> sp.	99,25%	MH681594
		99,25%	EU552110
		99,05%	OL661610

Nº de coleta/Coleção	Táxon	% similaridade	Nº de acesso do <i>GenBank</i>
MPD429	<i>Lentinus crinitus</i>	99,65%	GU207292
		99,47%	GU207297
		99,30%	MK408649
MPD367	<i>Lentinus berteroi</i>	97,99%	MH915574
		98,66%	OK393677
		99,24%	MK890046
NCC132	<i>Lentinus crinitus</i>	98,30%	MK408649
		98,30%	MK408648
		98,30%	MH708513
NMJ357	<i>Lentinus crinitus</i>	93,32%	MK408649
		93,32%	MK408648
		92,63%	OQ389414
NMJ358	<i>Lentinus crinitus</i>	99,85%	MK408649
		99,85%	MK408648
		98,83%	OQ389414
NMJ372	<i>Lentinus crinitus</i>	90,71%	MK408649
		90,71%	MK408648
		90,71%	MN602048
NMJ430	<i>Lentinus concavus</i>	96,07%	GU053785
		93,98%	OL771748
		93,90%	MW577318
NMJ433	<i>Lentinus concavus</i>	96,07%	GU053785
		93,98%	OL771748
		93,90%	MW577318
NMJ456	<i>Lentinus crinitus</i>	100%	MK408649
		100%	MK408648
		100%	MN602048
PNT2	<i>Lentinus crinitus</i>	99,30%	GU207295
		99,30%	GU207291
		99,13%	KX065949

Das 34 sequências de espécies de *Lentinus* obtidas, três foram obtidas diretamente de fragmentos do basidioma desidratado (DAZ143, MPC38 e NMJ456), para os quais não há cultura pura disponível, enquanto as demais 31 sequências foram todas obtidas a partir da cultura pura, incluindo as 15 culturas que permaneceram viáveis e que seguiram para os experimentos em meio de cultura e nos substratos de cultivo.

Com base nas análises filogenéticas de Máxima Verossimilhança (MV) de sequências da região ITS de representantes de *Lentinus* (Figura 2), cinco das amostras aqui obtidas representam duas espécies bem delimitadas do ponto de vista filogenético (*L. concavus* e *L. scleropus*), enquanto as demais 29 amostras representam dois complexos de espécies aqui denominados ‘*L. berteroi* complex’ e ‘*L. crinitus* complex’. A identificação de *L. concavus* e *L. scleropus* se baseou na morfologia (Figuras 3 e 4), conforme descrito por Pegler (1983), enquanto para o reconhecimento dos clados ‘*L. berteroi* complex’ e ‘*L. crinitus* complex’ foi seguida a delimitação sugerida por Grand *et al.* (2011), visto que a plasticidade morfológica dos representantes desses clados é bastante ampla (Figuras 5 e 6).

Na análise filogenética de MV (Figura 2) foram incluídas também sequências de espécimes poroides, uma vez que trabalhos recentes têm mostrado a relação filogenética de *Lentinus* com algumas espécies do grupo *Polyporus/Polyporellus* que são suportadas pelas análises moleculares e também devido a algumas semelhanças macromorfológicas (himenóforo) e micromorfológicas (sistema hifal) (Pegler 1983, Seelan *et al.* 2015, Zmitrovich 2010). Em nossa análise (Figura 2), foi possível confirmar essa relação a partir da formação de um clado bem suportado (100% BS) que inclui representantes tradicionalmente tratados em *Lentinus* (ex.: *L. badius*, *L. berteroi*, *L. concavus*, *L. crinitus*, *L. glabratus*, *L. scleropus*, *L. squarrosulus*, *L. swartzii* e *L. tigrinus*), além também de outros tradicionalmente tratados em *Polyporus/Polyporellus* (p. exe.: *L. brumalis*, *L. arcularius* e *L. ciliatus*). Neste trabalho, analisaremos apenas os representantes de *Lentinus* tradicionalmente classificados em *Lentinus* subg. *Lentinus* sensu Pegler (1983).

Lentinus subg. *Lentinus* sensu Pegler (1983) foi recuperado como um grupo parafilético (Figura 2), incluindo também representantes de *Polyporus/Polyporellus* entre os clados correspondentes às seções de *Lentinus* subg. *Lentinus* sensu Pegler (1983). Das cinco seções de *Lentinus* subg. *Lentinus* sensu Pegler (1983) mantidas no gênero *Lentinus*, três delas foram recuperadas como grupos monofiléticos bem suportados (Figura 2): *Lentinus* sect. *Tigrini* (88% BS), *Lentinus* sect. *Lentodiellum* (98% BS) e *Lentinus* sect. *Dicholamellatae* (100% BS). Os representantes de *Lentinus* sect. *Rigidi* formaram grupos parafiléticos, enquanto os representantes de *Lentinus* sect. *Lentinus* formaram um grupo monofilético, mas sem suporte de *bootstrap* (Figura 2).

As sequências dos espécimes amostrados neste projeto estão em *Lentinus* sect. *Lentinus* e em *Lentinus* sect. *Lentodiellum* (Figura 2). Em *Lentinus* sect. *Lentinus* estão presentes os representantes de ‘*L. berteroi* complex’ e ‘*L. crinitus* complex’, além de uma sequência (MN192922) de um fungo endofítico de *Paullinia cupana* var. *sorbilis* Mart. (Ducke) identificado como *L. swartzii* e que agrupou com outras sequências de material identificado como *L. swartzii* das Filipinas e da Costa Rica (Apêndice B). Sequências de espécimes identificados como *L. berteroi* e *L. crinitus* agruparam em dois clados principais, aqui nomeados como ‘*L. berteroi* complex’ e ‘*L. crinitus* complex’, mas ambos sem suporte, sendo, ainda, o grupo formado majoritariamente por representantes de *L. berteroi* um grupo monofilético. Além disso, no clado ‘*L. crinitus* complex’, formado majoritariamente por sequências identificadas como *L. crinitus*, há também sequências nomeadas como *L. berteroi* e vice-versa.

Em *Lentinus* sect. *Lentodiellum* estão presentes *L. concavus*, *L. scleropus* e *L.*

striatulus (Figura 2). De acordo com Pegler (1983), as espécies dessa seção são caracterizadas pela ausência ou pela pouca quantidade de pelos no píleo. *Lentinus striatulus*, que possui tipo da Guiana Francesa (Pegler 1983), foi recuperado como um clado (96% BS) com sequências da Índia e da Costa Rica, enquanto *L. scleropus*, que possui tipo de Brasil (Pegler, 1983), foi recuperado como dois terminais não monofiléticos, incluindo uma sequência de material do México (GU207310) e outra a partir de um material amostrado neste estudo (MPCS38).

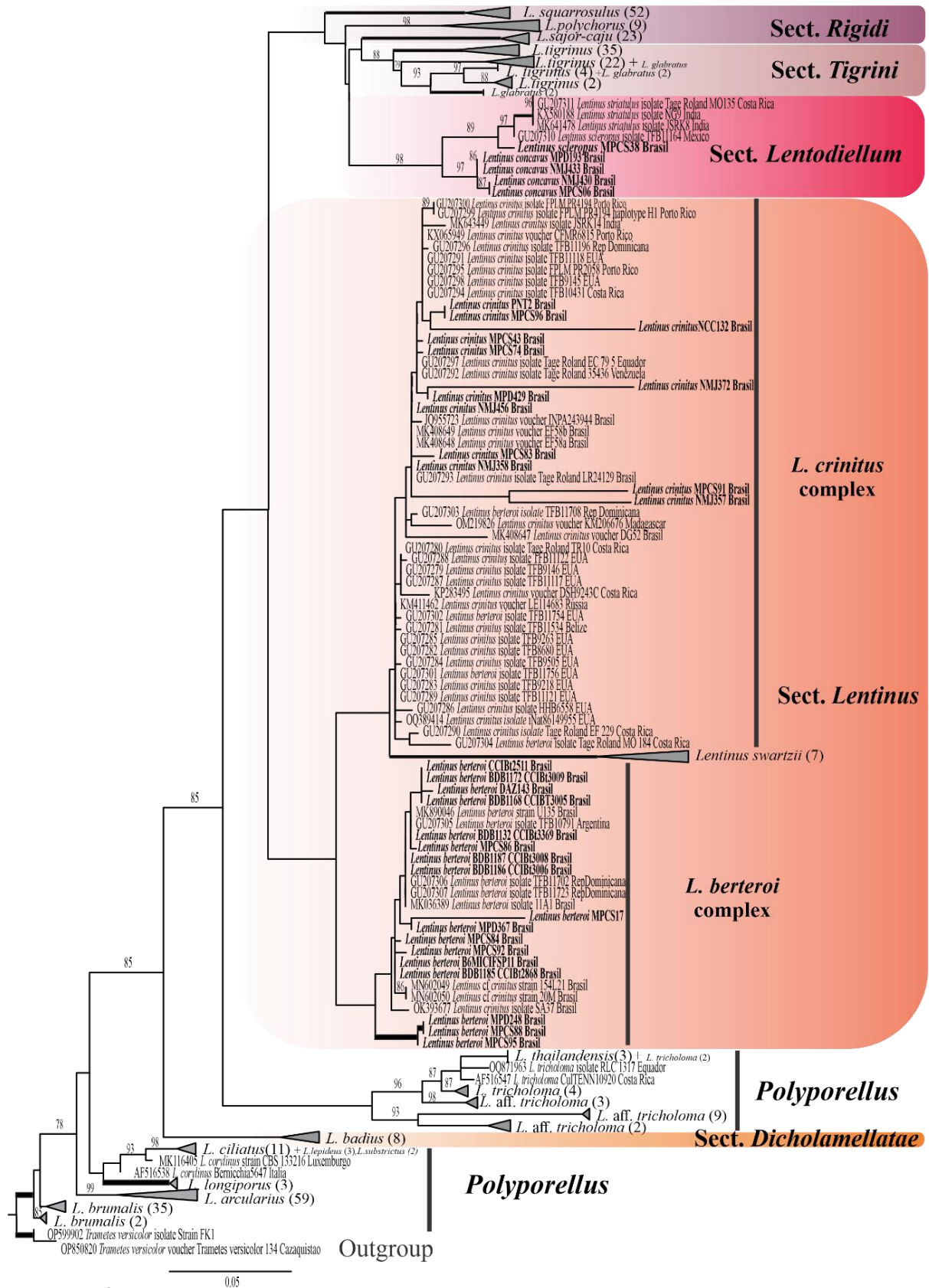


Figura 2: Árvore filogenética do gênero *Lentinus* baseada em sequências de ITS e no método de Máxima Verossimilhança (MV). As sequências em negrito representam as sequências geradas neste trabalho. Os números à frente do nome das espécies de cada clado colapsado representam a quantidade de sequências amostradas para este clado. Os números acima dos ramos representam o valor de *bootstrap* ($\geq 70\%$). Os ramos com traço espesso representam valor de *bootstrap* igual a 100%. As seções indicadas são com base em Pegler (1983) para *Lentinus* subg. *Lentinus*.

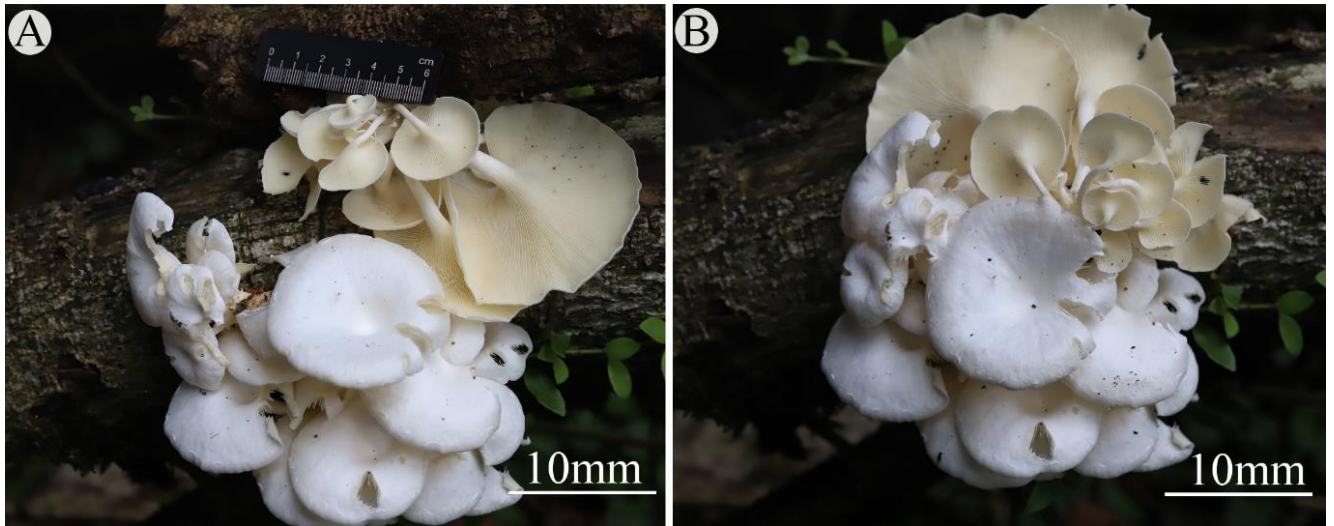


Figura 3: Representante de *Lentinus concavus* coletado em Cananeia – SP (Parque Estadual da Ilha do Cardoso – Núcleo Perequê). **A-B.** MPC506. **Fotos:** Corrêa-Santos, M.P.



Figura 4: Representante de *Lentinus scleropus* coletado em São Paulo – SP (Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de São Paulo, Campus São Paulo). **A-B.** MPC538. **Fotos:** Pimentel, L.



Figura 5: Representantes do complexo de espécies *Lentinus berteroi*. **A.** DAZ143. **B.** MPC517. **C.** MPC584. **D.** MPC588. **E.** MPC592. **F.** MPC595. **G.** MPD248. **H.** MPD367. **Fotos:** B, C, D, E, F, G – Corrêa-Santos, M.P.; G – Drewinski, M.P.; A – Zabin, D.A. **Locais de coleta:** **A.** Limeira – SP (Bairro dos Pires); **B.** Ilhabela – SP (Trilha do Bonete); **C-F.** Caraguatatuba – SP (Parque Estadual da Serra do Mar – Núcleo Caraguatatuba). **G.** Iporanga – SP (Parque Estadual Turístico do Alto da Ribeira – Núcleo Santana). **H.** Cananeia – SP (Ilha do Cardoso – Núcleo Marujá).



Figura 6: Representantes de '*L. crinitus complex*'. **A-B.** MPCS43; **C.** MPCS74; **D.** MPCS83; **E.** MPCS86; **F.** MPCS91; **G.** MPCS96; **H.** NCC132. Fotos: **A:** Menolli Jr, N.; **C–G:** Corrêa-Santos, M.P.; **B, H:** Nascimento, C. C. **Locais de coleta:** **A.** Iporanga – SP (Parque Estadual Turístico do Alto da Ribeira – Núcleo Santana, trilha do Rio Betari); **B.** Paraty – RJ (Fazenda Bananal); **C.** São Paulo – SP (Parque Estadual da Cantareira – Núcleo Pedra Grande, Trilha da Bica); **D.** Ilhabela – SP (Trilha do Bonete); **E.** São Paulo – SP (Parque Estadual Fontes do Ipiranga); **F.** Caraguatatuba – SP (Parque Estadual da Serra do Mar – Núcleo Caraguatatuba); **G.** Caraguatatuba – SP (Parque Estadual da Serra do Mar – Núcleo Caraguatatuba, Trilha Jequitibá). **H.** São Paulo – SP (Instituto Federal de Ciência, Educação e Tecnologia de São Paulo, *Campus São Paulo*).

3.3 CRESCIMENTO E BIOMASSA MICELIAL EM MEIO DE CULTURA E EM SUBSTRATO DE CULTIVO

O experimento de crescimento micelial foi realizado com nove isolados de '*L. berteroi* complex' (CCIBt2868, CCIBt3005, CCIBt3006, CCIBt3008, CCIBt3009, CCIBt3369, MPCs17, MPCs88 e MPCs92), um isolado de *L. concavus* (MPCs430) e cinco isolados de '*L. crinitus* complex' (MPCs74, MPCs96, MPD429, NMJ357 e NMJ456).

O experimento piloto para determinação do período mínimo de colonização (em dias) da placa de Petri revelou a completa colonização, por pelo menos um dos isolados, em três dias para '*L. berteroi* complex' a 35 °C (Corrêa-Santos 2020), quatro dias para *L. concavus* a 35 °C e três dias para '*L. crinitus* complex' a 35 °C.

Considerando os dados do experimento piloto, foram então conduzidos os experimentos de crescimento micelial e determinação da biomassa micelial seca em meio de cultura BDA em diferentes temperaturas (25 °C, 30 °C, 35 °C, 40 °C e 45 °C) para os isolados de '*L. berteroi* complex', *L. concavus* e '*L. crinitus* complex'. Os resultados para cada espécie e complexo de espécies são apresentados a seguir.

3.3.1 '*Lentinus berteroi* complex'

Para os nove isolados de '*L. berteroi* complex', a média geral de crescimento foi maior ($p < 0,05$) a 35 °C (Figura 7A), tendo pelo menos sete isolados (CCIBt3009, CCIBt3005, CCIBt3008, CCIBt3006, CCIBt2868, CCIBt3369 e MPCs17) completado o crescimento no meio de cultura na placa de Petri em três dias. Os isolados CCIBt3006, CCIBt3009, CCIBt2868 e CCIBt3369 apresentaram um bom crescimento micelial também a 30 °C, sendo que os valores médios de crescimento desses isolados a 30 °C e a 35 °C não apresentaram diferença estatística significativa ($p \geq 0,05$).

Com relação aos valores de biomassa micelial seca, o melhor resultado ($p < 0,05$) da média geral (200,32 mg $\pm$ 11,32) para todos os isolados foi a 35 °C. O isolado CCIBt3009 se destacou ($p < 0,05$) em relação aos valores de biomassa obtidos para os demais isolados a 35 °C, sendo a média da biomassa micelial seca do isolado CCIBt3009 a 35 °C igual a 333,61 mg ($\pm$ 12,21). Baseado nesses resultados, o isolado CCIBt3009 foi selecionado para o teste de crescimento micelial em substrato de cultivo à temperatura de 35 °C.

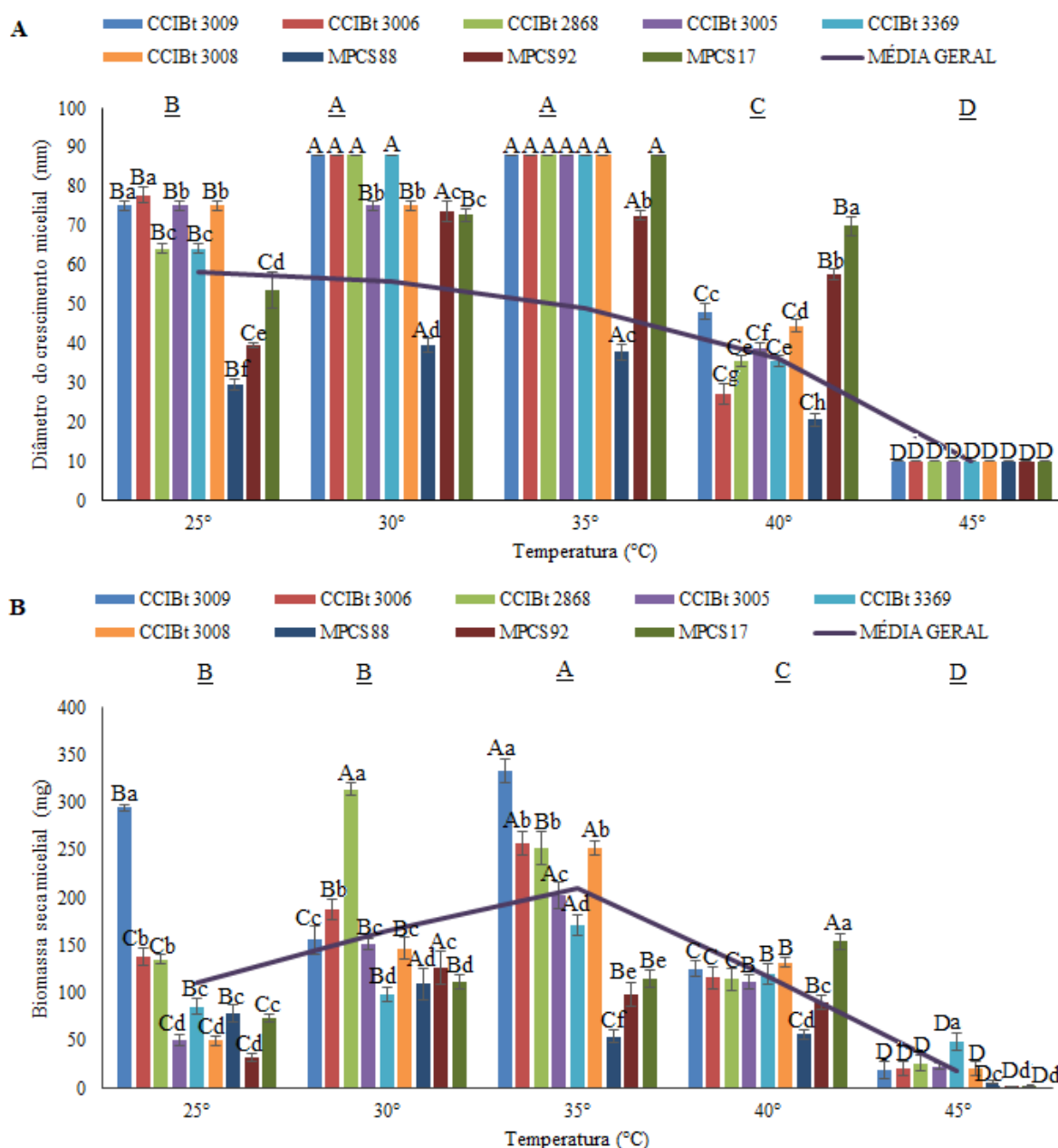


Figura 7: Crescimento micelial de nove isolados silvestres de '*Lentinus berteroi* complex' no terceiro dia de incubação em meio de cultura BDA sob diferentes temperaturas. A. Diâmetro micelial (mm). B. Peso seco micelial (mg). Letras minúsculas comparam diferentes isolados em uma mesma faixa de temperatura. Letras maiúsculas comparam o mesmo isolado em diferentes faixas de temperatura. Letras maiúsculas sublinhadas comparam as médias gerais de todos os isolados em diferentes faixas de temperatura. As médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. A ausência de letras minúsculas sobre as barras indica diferença não significativa.

No teste de crescimento micelial em substrato de cultivo *in vitro* a 35 °C, o isolado CCIBt3009 apresentou desenvolvimento micelial a partir do primeiro dia no substrato SE e a partir do segundo dia no substrato PA (Figura 8). O isolado, porém, se desenvolveu rapidamente em PA e o colonizou completamente em 10 dias (Figura 9A), sendo que o substrato SE foi completamente colonizado em 13 dias (Figura 9B). A média de crescimento micelial durante os dias de colonização no substrato PA foi maior ($p < 0,05$) do que no

substrato SE, com crescimento médio por dia de 13,51 mm ($\pm 2,21$) em PA e 8,16 mm ($\pm 1,25$) em SE. Após o quarto dia de crescimento, foi possível notar diferença do micélio desenvolvido nos dois substratos, sendo que o micélio em PA passou a crescer mais rápido, apesar de menos denso e vigoroso, enquanto o micélio no substrato SE se desenvolveu de forma mais lenta, porém mais vigorosa.

Após a colonização completa do substrato, as tampas dos frascos foram retiradas e eles foram mantidos em câmara de cultivo com condições que variaram de 640–840 ppm de CO₂, 25–35°C e 80–90% de umidade. Após 20 dias na câmara de cultivo, foi possível observar a formação de primórdios no substrato SE em seis de 15 réplicas (Figura 9C–D), sendo que os basidiomas estavam maduros cinco dias após o início dos primórdios (Figura 9E–F). Os basidiomas formados apresentaram píleo com tamanho entre 30 e 70 mm de diâmetro e estipe de 40 a 80 mm de comprimento.

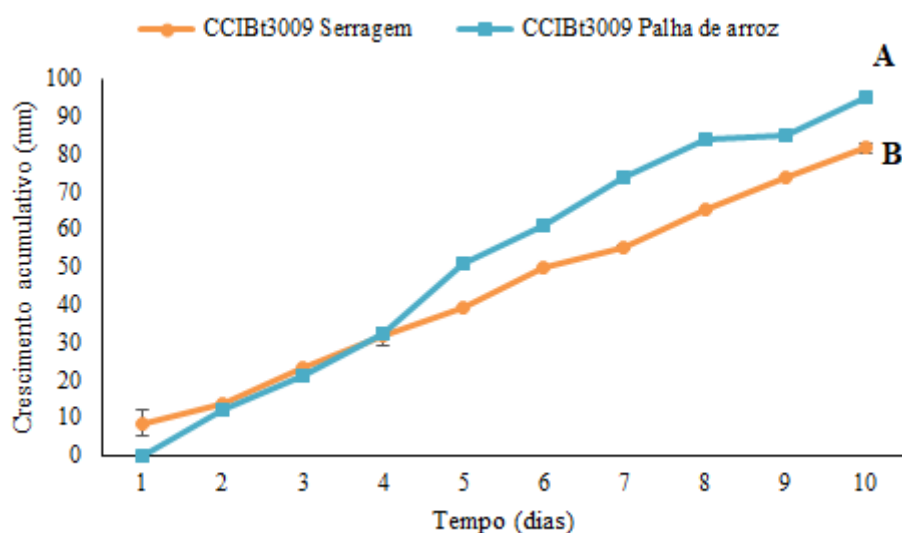


Figura 8: Crescimento micelial acumulado do isolado silvestre CCIBt3009 de '*Lentinus berteroi complex*' em substratos à base de serragem de eucalipto e à base de palha de arroz a 35 °C. Letras maiúsculas comparam o crescimento micelial no décimo dia em diferentes substratos. As médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.



Figura 9: Crescimento micelial em substrato de cultivo e formação de basidiomas do isolado silvestre CCIBt3009 de '*Lentinus berteroi* complex'. **A.** Crescimento micelial em substrato à base de palha de arroz no 10º dia à temperatura de 35 °C. **B.** Crescimento micelial em substrato à base de serragem de eucalipto no 13º dia à temperatura de 35 °C. **C-D.** Formação de primórdio após 20 dias na câmara de cultivo. **E-F.** Basidioma em ponto de colheita após cinco dias da aparição dos primórdios. Fotos: Corrêa-Santos, M.P.

3.3.2 *Lentinus concavus*

O isolado NMJ430 de *L. concavus* apresentou melhor ($p < 0,05$) crescimento micelial a 35 °C (Figuras 10, 12A), tendo completado o crescimento no meio de cultura na placa de Petri em quatro dias. Em relação à biomassa micelial, no quarto dia de crescimento, o peso seco da biomassa micelial produzida pelo isolado NMJ430 foi maior ($p < 0,05$) a 35 °C (Figura 11B), com média de 130,4 mg ($\pm 9,91$).



Figura 10: Crescimento micelial do isolado silvestre NMJ430 de *Lentinus concavus* em meio BDA no quarto dia. (A) 25 °C. (B) 30 °C. (C) 35 °C. (D) 40 °C. (E) 45 °C. Barras de escala = 3 cm. Fotos: Corrêa-Santos, M.P.

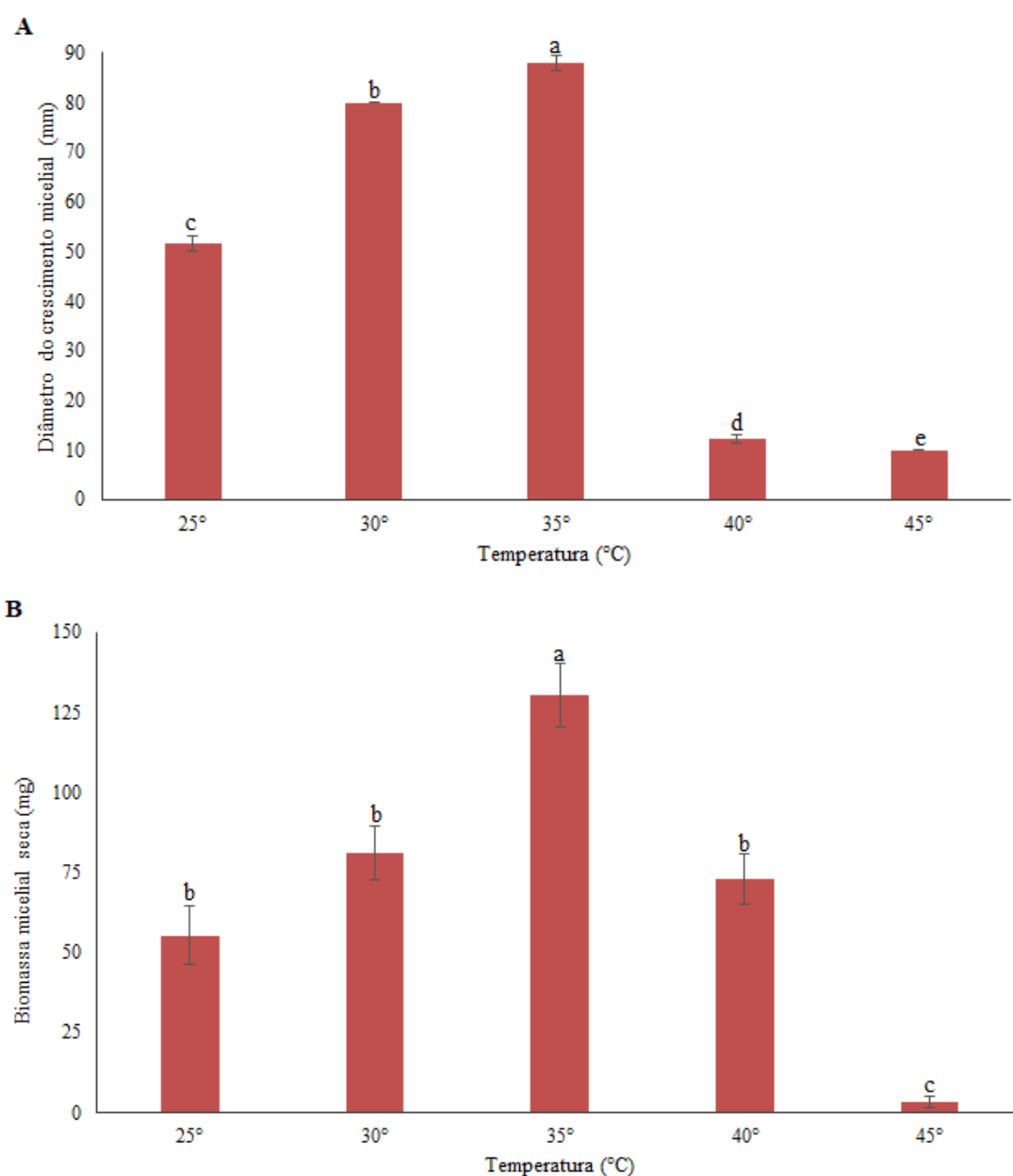


Figura 11: Crescimento micelial do isolado silvestre NMJ430 de *Lentinus concavus* no quarto dia de incubação em meio de cultura BDA a diferentes temperaturas. A. diâmetro micelial (mm). B. Peso seco micelial (mg). Letras minúsculas comparam o isolado em diferentes temperaturas. As médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

No teste de crescimento micelial em substrato de cultivo *in vitro* a 35 °C, o isolado NMJ430 de *L. concavus* colonizou completamente o substrato PA em nove dias e o substrato SE em 14 dias. A média de crescimento diário foi de 11 mm ($\pm 4,07$) em PA e de 6,12 mm ($\pm 2,42$) para o substrato de SE; esses valores foram significativamente diferentes entre si ($p < 0,05\%$). O isolado apresentou as mesmas características de micélio que as observadas para o isolado CCIBt3009 de '*L. berteroi* complex' nos dois substratos, ou seja, o micélio em SE se

desenvolveu bem vigoroso e denso, ao contrário do micélio desenvolvido em PA. Após a completa colonização dos substratos, os frascos foram abertos e colocados na câmara de cultivo, porém não houve formação de primórdios em nenhum dos substratos para *L. concavus*. Os frascos foram mantidos na câmara de cultivo por 60 dias e as condições variavam entre 640–840 ppm de CO₂, 25–35°C de temperatura e 80–90% de umidade.

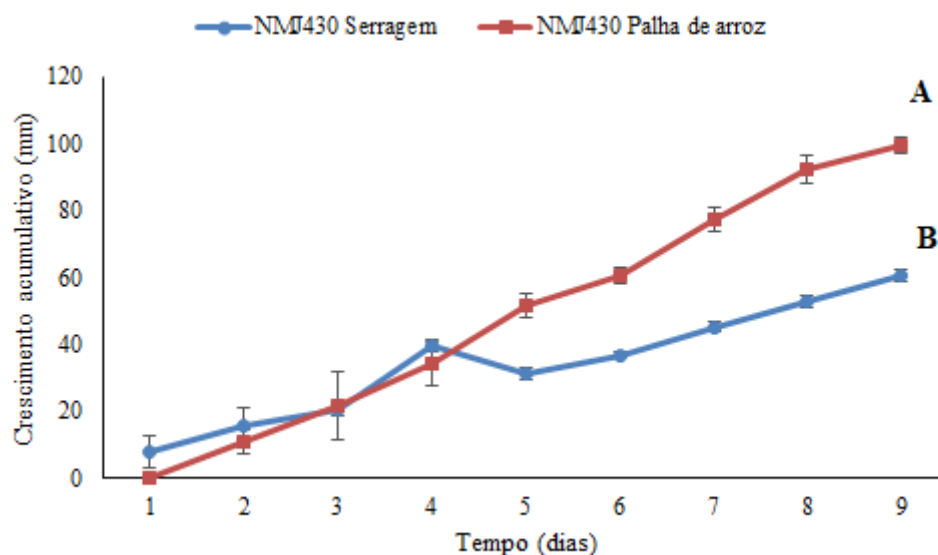


Figura 12: Crescimento micelial acumulativo do isolado silvestre NMJ430 de *Lentinus concavus* em substratos à base de serragem de eucalipto e à base de palha de arroz a 35 °C. Letras maiúsculas comparam o crescimento micelial no nono dia em diferentes substratos. As médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.



Figura 13: Crescimento micelial em substrato de cultivo do isolado silvestre NMJ430 de *Lentinus concavus*. (A) Substrato à base de palha de arroz no nono dia à temperatura de 35 °C. (B) Substrato à base de serragem de eucalipto no 13º dia à temperatura de 35 °C. Barras de escala = 3 cm. Fotos: Corrêa-Santos, M.P.

3.3.3 '*Lentinus crinitus* complex'

Para os cinco isolados de '*L. crinitus* complex', a maior média geral de crescimento micelial se deu à temperatura de 35 °C ($p < 0,05$), com destaque para os isolados MPC596, MPD429 e NMJ357 que se desenvolveram melhor ($p < 0,05$) que os demais isolados a 35 °C.

O isolado MPC96 obteve melhor desempenho a 35 °C (76,95 mm $\pm$ 1,73) e a 40 °C (73,55 mm $\pm$ 3,24), não havendo diferença estatística ($p \geq 0,05$) em ambas temperaturas (Figura 14A, Figura 15). Os valores de crescimento micelial a 35 °C dos isolados MPD429 (79,55 mm $\pm$ 1,87) e NMJ357 (77,50 mm $\pm$ 1,58) foram iguais estatisticamente ($p \geq 0,05$) entre si e também iguais ($p \geq 0,05$) aos valores observados para o isolado MPC96 nessa mesma temperatura.

Em relação à biomassa seca, o melhor resultado ($p < 0,05$) da média geral dos isolados foi a 40 °C (124,93 $\pm$ 10,63 mg) com destaque ao isolado MPC96, que apresentou o maior ($p < 0,05$) valor de biomassa micelial seca (157,1 mg $\pm$ 16,61) (Figura 14B). Baseado nesses resultados, o isolado MPC96 foi selecionado para o teste de crescimento micelial em substrato de cultivo à temperatura de 40 °C.

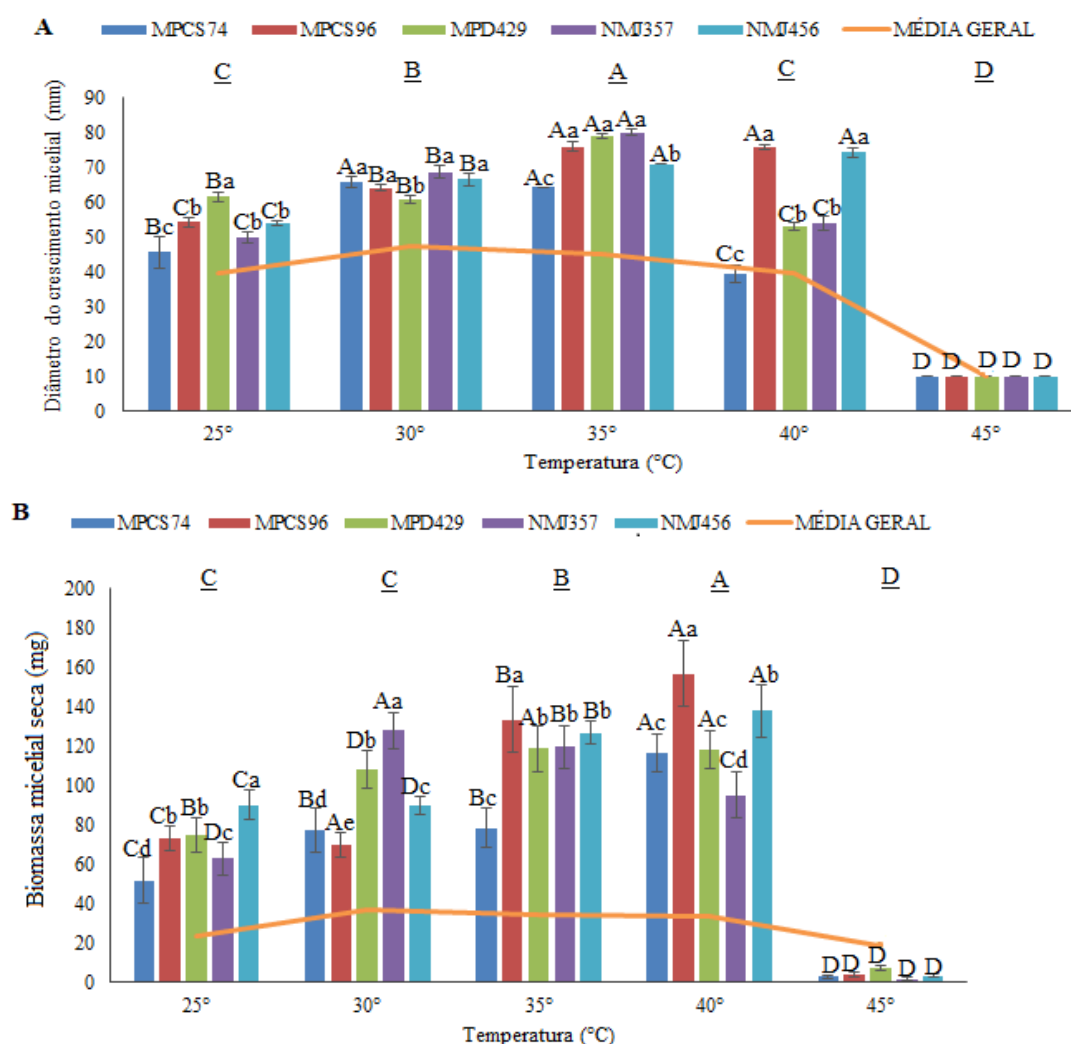


Figura 14: Crescimento micelial de cinco isolados silvestres de '*Lentinus crinitus* complex' no terceiro dia de incubação em meio de cultura BDA a diferentes temperaturas. A. Diâmetro micelial (mm). B. Peso seco micelial (mg). Letras minúsculas comparam diferentes isolados em uma mesma faixa de temperatura. Letras maiúsculas comparam o mesmo isolado em diferentes faixas de temperatura. Letras maiúsculas sublinhadas comparam as médias gerais de todos os isolados em diferentes faixas de temperatura. As médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. As ausências de letras minúsculas sobre as barras indicam diferenças não significativas.

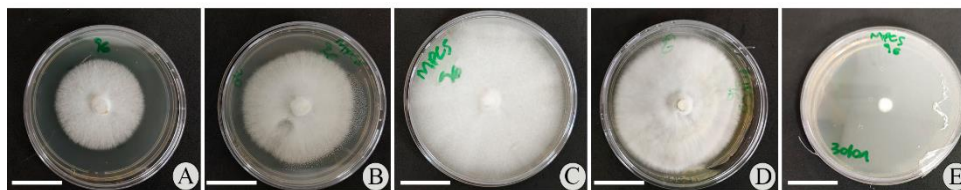


Figura 15: Crescimento micelial do isolado silvestre MPCS96 de '*Lentinus crinitus complex*' em meio BDA no terceiro dia. (A) 25 °C. (B) 30 °C. (C) 35 °C. (D) 40 °C. (E) 45 °C. Barras de escala = 3 cm. Fotos: Corrêa-Santos, M.P.

No teste de crescimento micelial em substrato *in vitro* a 40 °C (Figuras 16 e 17), o isolado MPCS96 colonizou completamente o substrato PA em 15 dias com uma média de crescimento diário de 5,02 mm ($\pm 1,40$), enquanto no substrato SE a média do crescimento diário foi de 3,97 mm ($\pm 1,69$), apresentando diferença estatística entre os substratos ($p < 0,05$). Assim como nos isolados de *L. berteroi* e *L. concavus*, houve diferença no crescimento micelial nos dois substratos. Em todas as réplicas, o micélio que cresceu no substrato SE se mostrou muito mais vigoroso, apesar de um lento crescimento, diferente do que se observou no substrato PA, no qual o crescimento micelial foi mais rápido, apesar de menos vigoroso.

Para estimular o desenvolvimento de primórdios, os frascos foram abertos após a completa colonização do substrato e mantidos na câmara de cultivo por 60 dias, com 640–840 ppm de CO₂, 25–35 °C de temperatura e 80–90% de umidade, porém formaram primórdios até 61 dias após a abertura dos frascos.

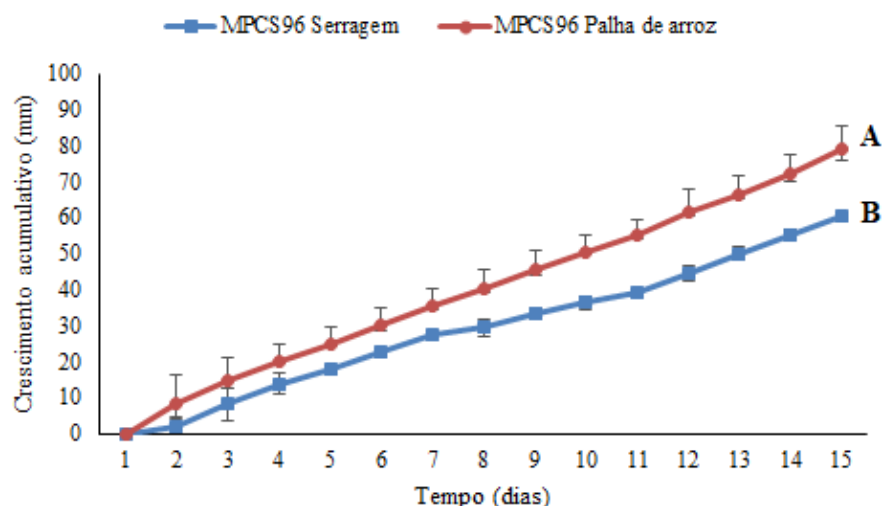


Figura 16: Crescimento micelial acumulativo do isolado silvestre MPCS96 de '*Lentinus crinitus complex*' em substratos à base de serragem de eucalipto e à base de palha de arroz a 40 °C. Letras maiúsculas comparam o crescimento micelial no décimo quinto dia em diferentes substratos. As médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

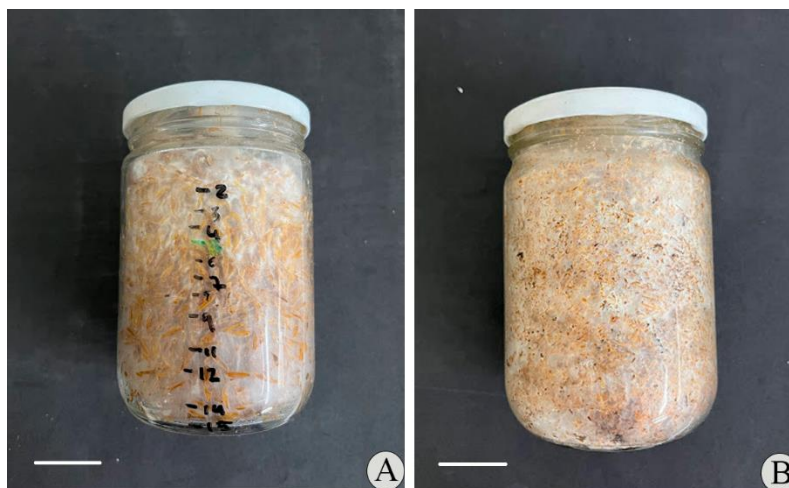


Figura 17: Crescimento micelial em substrato de cultivo do isolado silvestre MPC96 de '*Lentinus crinitus* complex'. (A) Substrato à base de palha de arroz no 15º dia à temperatura de 40 °C. (B) Substrato à base de serragem de eucalipto no 21º dia à temperatura de 40 °C. Barras de escala = 3 cm. Fotos: Corrêa-Santos, M.P.

4 DISCUSSÃO

Das dez espécies de *Lentinus* reportadas para o Brasil, foi possível confirmar o registro com base molecular de duas espécies de *Lentinus* sect. *Lentodiellum*, *L. concavus* e *L. scleropus*, além da evidência de que *L. berteroi* e *L. crinitus* representam dois complexos de espécies de *Lentinus* sect. *Lentinus*. *Lentinus* sect. *Lentodiellum* foi recuperado como um clado monofilético (BS 96%), incluindo sequências de *L. concavus*, *L. scleropus* e *L. striatulus*. Foram geradas as primeiras sequências de DNA de *L. concavus* e a primeira sequência de *L. scleropus* a partir de um material do país do holótipo. Os primeiros registros de coleta de *L. scleropus* para o Brasil foram realizados em Manaus, em 30 de setembro de 1957, por Chagas, e no Rio de Janeiro, por Gaudichaud (Pegler 1983). O espécime da sequência gerada neste trabalho foi coletado em São Paulo, em uma árvore morta no jardim do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de São Paulo, *Campus* São Paulo. Uma sequência de material do México (GU207310) identificado como *L. scleropus* não agrupou com a sequência do material brasileiro em nossas análises filogenéticas (Figura 2), sendo necessários estudos morfológicos complementares para certificar a identidade desse material, que deve representar uma espécie distinta de *L. scleropus* e mais relacionada a *L. striatulus*. Os quatro espécimes de *L. concavus* sequenciados neste trabalho foram coletados em áreas preservadas de Mata Atlântica do estado de São Paulo, três na região de Iporanga (MPD193, NMJ430, NMJ433) e um da Ilha do Cardoso (MPCS06). *Lentinus striatulus* está representado por sequências da Índia e da Costa Rica. Morfologicamente, as espécies de *Lentinus* sect. *Lentodiellum* são separadas das demais seções de *Lentinus* pela ausência de *hyphal pegs* no himênio (Grand *et al.* 2011)

Lentinus sect. *Lentinus* foi recuperada em um clado monofilético, porém sem suporte de *bootstrap*, incluindo sequências de material identificado como *L. berteroi*, *L. crinitus* e *L. swartzii* (Figura 2). *Lentinus berteroi* e *L. crinitus* foram evidenciados como dois complexos de espécies que são facilmente confundidas macromorfológicamente. A alta plasticidade morfológica dentro do grupo pode, de acordo com Pegler (1983), estar relacionada à localização geográfica, cuja distribuição, segundo esse autor, vai desde a Costa do Golfo dos Estados Unidos, passando pelo México e ilhas do Caribe, até Buenos Aires, na Argentina. Pegler (1983) distinguiu morfológicamente *L. berteroi* de *L. crinitus* principalmente por apresentarem uma diferença na densidade de pelos no píleo, caracterizando *L. berteroi* com um píleo densamente, piloso principalmente nas margens, já *L. crinitus* apresenta um píleo com poucas fibrilas nas margens e glabrescente no centro.

O primeiro autor a nomear e delimitar com dados moleculares esses clados como sendo *L. berteroi* e *L. crinitus* foi Grand *et al.* (2011) com base em amostra das Américas, embora os autores já haviam reportado a dificuldade de distinguir ou segregar os representantes desses táxons pelas características macromorfológicas, o que sugere que o grupo seja um complexo de espécies, incluindo táxons crípticos. No entanto, corroborando os apontamentos de Grand *et al.* (2011), verificamos que os espécimes aqui estudados (Figuras 3 e 4) agrupados em ambos os clados têm características macromorfológicas que se sobrepõem aos conceitos morfológicos de *L. berteroi* e *L. crinitus* sensu Pegler (1983). Por esses motivos, estamos tratando esses clados como '*L. berteroi* complex' e '*L. crinitus* complex', e as culturas selecionadas para os testes de temperatura e substrato cujas sequências agruparam em um desses clados foram analisadas como complexos, em dois grupos de táxons crípticos.

Nas análises do presente estudo (Figura 2), o clado '*L. crinitus* complex' não teve suporte, porém, a amostragem desse clado inclui representantes de Belize, do Brasil, da Costa Rica, do Equador, dos Estados Unidos (incluindo Porto Rico), da Índia, de Madagascar, da República Dominicana, da Rússia e da Venezuela, sendo possível inferir uma distribuição pantropical ou mesmo cosmopolita da espécie. O holótipo de *L. crinitus* é da Jamaica (Singer 1961). Em relação às coleções deste estudo cujas sequências agruparam no clado identificado como '*L. crinitus* complex', a maioria possui características macromorfológicas semelhantes à descrição de Pegler (1983) para *L. crinitus*, exceto o espécime NCC132, que morfológicamente é muito mais semelhante à descrição de Pegler (1983) para *L. berteroi* (Figuras 5 e 6).

Nas análises das coleções que se agruparam no clado '*Lentinus berteroi* complex', as coleções DAZ143 e MPD248 (Figura 5) são as que mais se aproximaram da descrição de Pegler (1983) para *L. berteroi*. Nesse clado, a sequência da coleção MPD248 agrupou em um subclado bem suportado (100%BS), juntamente com as coleções MPC88 e MPC95, que podem representar uma espécie distinta das demais. Todos os espécimes recuperados no clado '*L. berteroi* complex' são provenientes da Argentina, do Brasil e da República Dominicana (Figura 2), de forma que podemos inferir que talvez *L. berteroi* ocorra apenas no Neotrópico. O holótipo de *L. berteroi* é de Guadalupe, uma ilha do Caribe (Singer 1961).

O conhecimento sobre a comestibilidade de algumas espécies do gênero *Lentinus* incentiva o estudo das condições de cultivo das espécies desse gênero. Existem registros de estudos de domesticação para as seguintes espécies: *L. crinitus* (Bertéli *et al.* 2021, Colla *et al.* 2020), *L. sajor-caju* (Dulay *et al.* 2012, Niazi 2022), *L. tigrinus* (Dulay *et al.* 2012, Niazi 2022), *L. squarrosulus* (Leon *et al.* 2017), *L. swartzii* (Dulay *et al.* 2017) e, agora, neste

trabalho, representantes de *L. concavus* e do complexo de espécies *L. berteroi*.

Compreender as preferências fisiológicas e nutricionais para o cultivo dos fungos é fundamental como parte do processo de domesticação (Zerkavis *et al.* 2001). Colla *et al.* (2020) afirmaram que, durante o período de colonização micelial é quando se padroniza e melhor se aproveita o substrato, sendo possível também o controle de contaminantes. O controle de contaminantes é bastante importante no ponto de vista econômico, uma vez que um substrato que demora a ser colonizado está mais propício à contaminação por fungos ou bactérias (Zerkavis *et al.* 2001). Colla *et al.* (2020), afirmam que uma boa produção micelial depende de recursos fornecidos pelo substrato e uma faixa de temperatura adequada ao crescimento do micélio. Por estes motivos, a partir dos resultados obtidos, a seleção dos isolados foi baseada nessas variáveis, crescimento e vigor micelial, esse último expresso pela biomassa seca

Os experimentos realizados em meio BDA em diferentes temperaturas evidenciaram um melhor desenvolvimento micelial para todas as espécies de *Lentinus* em temperaturas acima de 25 °C. Marim *et al.* (2018) estudaram duas cepas do Paraná identificadas como *L. crinitus* e obtiveram os melhores resultados em relação à produção de biomassa nas temperaturas de 28 °C e 37 °C, com uma diferença de 225% a mais de biomassa a 37 °C do que a 28 °C. Colla *et al.* (2020) testaram uma cepa de *L. crinitus* em relação a temperatura e biomassa, numa faixa de temperatura de 19 a 40°C, sendo as temperaturas com os melhores resultados ($p < 0,05$) foram de 31 °C a 34 °C. Para o complexo de espécies *L. crinitus*, os melhores resultados de crescimento micelial ocorreram às temperaturas de 35 °C e 40 °C, com destaque para o isolado MPC96 que não apresentou diferença estatística ($p \geq 0,05$) de crescimento nas duas temperaturas. Em relação à biomassa, destaca-se a temperatura de 40 °C, em que o isolado MPC96 alcançou o maior valor (188,1 mg $\pm$ 36,39) entre os demais isolados ($p < 0,05$). Esses resultados demonstram que de *L. crinitus* é uma espécie bastante versátil, que tolera variações de temperaturas durante seu crescimento.

Resultados semelhantes aos de *L. crinitus* foram registrados para os isolados silvestres do complexo *L. berteroi*, sendo que sete (CCIBt3009, CCIBt3005, CCIBt3008, CCIBt3006, CCIBt2868, CCIBt3369 e MPC17) dos nove isolados estudados completaram a colonização das placas de Petri com meio BDA em três dias a 35 °C, com destaque para o isolado CCIBt3009 que apresentou o maior valor ($p < 0,05$) de biomassa seca (327,7 mg $\pm$ 114,38). Para *L. concavus*, a melhor temperatura de crescimento micelial também foi 35 °C, com média de biomassa micelial produzida nessa temperatura chegando a 137,4 mg ($\pm$ 41,69). Este estudo é o primeiro a registrar para *L. concavus* o crescimento e biomassa micelial em

função da temperatura e o crescimento micelial em substrato de cultivo. Esses resultados são importantes para direcionar as estratégias de produção de *L. concavus* e para o conhecimento geral das condições básicas de cultivo dessa espécie.

A diferença de tempo de crescimento de micélio registradas entre os substratos pode ser explicada a partir dos requisitos nutricionais dos fungos que decompõem celulose e lignina, que é o caso dos fungos do gênero *Lentinus* (Kendrick 2017). Fisiologicamente, a palha de arroz apresenta uma porcentagem maior de lignina e celulose do que a serragem de eucalipto (Gomide *et al.* 2004, Azevedo *et al.* 2016), o que justifica o tempo de crescimento do micélio ter sido menor no substrato de palha de arroz, uma vez que o fungo obtém uma maior quantidade de celulose e lignina para decompor. Kendrick (2017) propôs que existem quatro estágios de crescimento do fungo no substrato: a) estágio de latência, quando o crescimento começa lentamente e depois acelera gradualmente; b) o estágio exponencial, quando o crescimento continua a um ritmo elevado e constante; c) o estágio de declínio, à medida que o crescimento abranda e finalmente para; e d) morte, acompanhada por graus de autólise. Podemos notar que nos testes de substratos com isolados do '*L. berteroi* complex' e *L. concavus* houve um estágio de latência comparando os dois substratos, pois o crescimento no substrato de palha de arroz começou lento e após três ou quatro dias o crescimento acelerou gradualmente. Em relação ao vigoror, Rossi *et al.* (2003) associaram a presença de suplementação no substrato com maior ou menor vigor do micélio. Os autores notaram que no substrato que havia um aporte maior de suplemento de farelo de arroz o micélio crescia mais vigoroso do que o no substrato que a quantidade de suplemento era menor. No presente trabalho, os substratos com 70% palha de arroz e 30% serragem de eucalipto foi utilizado apenas o suplemento já presente na serragem de eucalipto, que talvez não tenha sido suficiente para maior vigor do micélio nesse substrato.

Comparado com outras espécies de *Lentinus* que já foram testadas *in vitro* com relação à biomassa e/ou ao crescimento micelial em função da temperatura, a maioria apresentou bom desenvolvimento acima de 30 °C. Dulay *et al.* (2015) testaram isolados silvestres de *L. tigrinus* e *L. sajor-caju* das Filipinas, e ambas espécies apresentaram melhor rendimento em temperaturas acima de 30 °C. Niazi *et al.* (2022) testaram *L. tigrinus* do Paquistão, e todos os isolados tiveram bom rendimento a 35 °C. Leon *et al.* (2017) testaram cepas de *L. squarrosulus* das Filipinas, e os resultados também foram melhores em temperaturas acima de 30 °C. Muitas das espécies de cogumelos tropicais crescem rapidamente a 25 °C ou sob temperaturas mais altas, sendo produzidos mais rapidamente nas regiões tropicais do que aqueles que são de regiões de clima temperado (Klomklung *et al.*,

2012).

Em relação aos testes de substratos *in vitro*, os substratos foram escolhidos devido ao uso comum de serragem de eucalipto para a produção de cogumelos comerciais e o teste neste substrato poderia indicar se a serragem também seria um bom substrato para os isolados de espécies silvestres. A escolha da palha de arroz foi devido aos resultados apresentados por Kalaw *et al.* (2021), em que *L. sajor-caju*, *L. squarrosulus* e *L. swartzii* apresentaram maior eficiência biológica em substrato com 70% de palha de arroz e 30% serragem.

Neste trabalho, o isolado CCIBt3009 do complexo *L. berteroi* foi o único que, nos substratos testados, formou primórdios (20 dias após os frascos serem abertos e mantidos a 35 °C na câmara de cultivo) e basidiomas (quatro dias após o aparecimento dos primórdios) no substrato SE. Kalaw *et al.* (2021) cultivaram basidiomas de *L. swartzii* e *L. sajor-caju* a 9 °C, 23 °C e 30 °C, com 80–90% de umidade, em serragem e palha de arroz e serragem (7:3), sendo que todos os isolados apresentaram alto crescimento micelial e micélio espesso a 30 °C. Os isolados das três espécies avaliadas neste trabalho tiveram características de crescimento semelhante em relação aos substratos testados, sendo que todos apresentaram um crescimento mais lento em SE, porém, bastante vigoroso, enquanto no substrato PA o micélio cresceu em um período menor de tempo, mas pouco vigoroso.

A temperatura ótima do gênero *Lentinus* é maior do que as temperaturas registradas para cogumelos comestíveis comerciais, como, por exemplo, o Shiitake (*Lentinula edodes* (Berk.) Pegler), o Champignon (*Agaricus bisporus*) e o Shimeji (espécies do gênero *Pleurotus*), que crescem a 25 °C (Eira *et al.* 2005, Navarro & Savoie 2013, Hoa & Wang 2015). Para Chang e Miles (2004), os basidiomicetos podem ser classificados em três grupos de acordo com a temperatura de crescimento: os psicrófilos, com temperatura mínima inferior a 0 °C, temperatura ótima em torno de 17 °C e falta de crescimento acima de 20 °C; os mesófilos, com temperatura mínima acima de 0 °C, temperatura máxima abaixo de 50 °C e temperatura ótima entre 15 e 40 °C; e os termófilos, com temperatura mínima acima de 20 °C, temperatura máxima igual ou superior a 50 °C e temperatura ótima em torno de 35 °C ou superior. Segundo essa classificação, o gênero *Lentinus* está na faixa de temperatura próximo aos termófilos.

Os fungos do gênero *Lentinus* crescem em ambientes tropicais com altas temperaturas. Além disso, de acordo com Mswaka & Magan (1999), uma temperatura de 35 °C é normalmente registrado ao meio-dia no interior dos troncos das árvores. Assim, os resultados de crescimento *in vitro* do nosso estudo estão próximos daqueles encontrados naturalmente no ambiente de crescimento desse fungo.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este trabalho teve como objetivo conhecer a diversidade de *Lentinus* e determinar as melhores condições de temperatura e substrato para o crescimento micelial e formação de basidiomas de cogumelos comestíveis silvestres coletados principalmente na Mata Atlântica. Sobre os estudos de diversidade, destaca-se a confirmação de base molecular da ocorrência de *L. concavus* e *L. scleropus* e do reconhecimento de *L. berteroi* e *L. crinitus* como dois complexos de espécies. Para *L. concavus* foram geradas as primeiras sequências de DNA da espécie, e este trabalho gerou a primeira sequência de *L. scleropus* a partir de uma amostra do país do material tipo da espécie. Em relação aos estudos de crescimento e cultivo *in vitro*, o objetivo foi possível de ser alcançado para isolados de *L. concavus* e dos complexos de espécies *L. berteroi* e *L. crinitus*. Infelizmente não foi recuperada a cultura obtida de *L. scleropus* para os testes *in vitro*.

Em relação à variável temperatura, destaca-se o isolado CCIBt3009 do complexo *L. berteroi*, que teve o melhor resultado de crescimento micelial e produção de biomassa à temperatura de 35 °C. Para o estudo de temperatura com os isolados do complexo *L. crinitus*, a melhor temperatura evidenciada foi a de 35 °C para o crescimento micelial, porém o melhor resultado de produção de biomassa foi a 40 °C, com destaque para o isolado MPCs96. Para *L. concavus*, o isolado NMJ430 apresentou melhores resultados na temperatura de 35 °C em relação ao crescimento micelial e à produção de biomassa.

O gênero *Lentinus* apresenta uma grande diversidade de espécies em regiões tropicais, e a pesquisa sobre a diversidade desse gênero abre portas para novas descobertas, principalmente em relação aos complexos de espécies, além de representar um gênero com espécies comestíveis mais bem adaptadas a temperaturas altas e que se desenvolvem bem em substratos baratos e de fácil acesso. O gênero *Lentinus* é surpreendente por ser capaz de se desenvolver e resistir em temperaturas tão altas, por mais que os basidiomas de algumas espécies do gênero sejam bastante coriáceos e de difícil mastigação para consumo *in natura*, é possível utilizá-los em pó, como condimentos e suplementos alimentares.

Conhecer a diversidade de espécies de cogumelos comestíveis e os principais fatores de domesticação dessas espécies ajuda nos primeiros passos de produção de cogumelos comestíveis silvestres adaptados ao nosso clima, que é diverso do sul ao norte do país. Espera-se que este trabalho contribua para continuidade dos estudos com cogumelos comestíveis silvestres que visem a domesticação, o cultivo e a descoberta de novos isolados adaptados ao clima local visando uma promissora inserção no mercado nacional de cogumelos comestíveis.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abrahão, M.C., Gugliotta, A.M., Bononi, V.L.R. 2012. *Xylophilous* Agaricomycetes (Basidiomycota) of the Brazilian Cerrado. CheckList 8: 1102–1116.

Abrahão, M.C., Pires, R.M., Gugliotta, A.M., Gomes, E.P.C.; Bononi, V.L.R. 2019. Wood-decay fungi (Agaricomycetes, Basidiomycota) in three physiognomies in the savannah region in Brazil. Hoehnea 46: 1-11.

Albertó, E. 2017. Naturally occurring strains of edible mushrooms: A source to improve the mushroom industry. In: ZEID, D.C; PARDO-GIMÉNEZ, A. (Eds.). Edible and medicinal mushrooms: Technology and applications, Hoboken: John Wiley & Sons. p. 415-425.

Antonelli, A., Fry, C., Smith, R.J., Simmonds, M.S.J., Kersey, P.J., Pritchard, H.W., Abbo, M.S., Acedo, C., Adams, J., Ainsworth, A.M., Allkin, B., Annecke, W., Bachman, S.P., Bacon, K., Bárrios, S., Barstow, C., Battison, A., Bell, E., Bensusan, K., Bidartondo, M.I., Blackhall-Miles, R.J., Borrell, J.S., Brearley, F.Q., Breman, E., Brewer, R.F.A., Brodie, J., Cámara-Leret, R., Campostrini Forzza, R., Cannon, P., Carine, M., Carretero, J., Cavagnaro, T.R., Cazar, M.-E., Chapman, T., Cheek, M., Clubbe, C., Cockel, C., Collemare, J., Cooper, A., Copeland, A.I., Corcoran, M., Couch, C., Cowell, C., Crous, P., Da Silva, M., Dalle, G., Das, D., David, J.C., Davies, L., Davies, N., De Canha, M.N., De Lirio, E.J., Demissew, S., Diazgranados, M., Dickie, J., Dines, T., Douglas, B., Dröge, G., Dulloo, M.E., Fang, R., Farlow, A., Farrar, K., Fay, M.F., Felix, J., Forest, F., Forrest, L.L., Fulcher, T., Gafforov, Y., Gardiner, L.M., Gâteblé, G., Gaya, E., Geslin, B., Gonçalves, S.C., Gore, C.J.N., Govaerts, R., Gowda, B., Grace, O.M., Grall, A., Haelewaters, D., Halley, J.M., Hamilton, M.A., Hazra, A., Heller, T., Hollingsworth, P.M., Holstein, N., Howes, M.-J.R., Hughes, M., Hunter, D., Hutchinson, N., Hyde, K., Iganci, J., Jones, M., Kelly, L.J., Kirk, P., Koch, H., Krisai-Greilhuber, I., Lall, N., Langat, M.K., Leaman, D.J., Leão, T.C., Lee, M.A., Leitch, I.J., Leon, C., Lettice, E., Lewis, G.P., Li, L., Lindon, H., Liu, J.S., Liu, U., Llewellyn, T., Looney, B., Lovett, J.C., Łuczaj, Ł., Lulekal, E., Maggassouba, S., Malécot, V., Martin, C., Maser, O.R., Mattana, E., Maxted, N., Mba, C., McGinn, K.J., Metheringham, C., Miles, S., Miller, J., Milliken, W., Moat, J., Moore, P.G.P., Morim, M.P., Mueller, G.M., Muminjanov, H., Negrão, R., Nic Lughadha, E., Nicolson, N., Niskanen, T., Nono Womdim, R., Noorani, A., Obreza, M., O'donnell, K., O'hanlon, R., Onana, J.-M., Ondo, I., Padulosi, S., Paton, A., Pearce, T., Pérez Escobar, O.A., Pieroni, A., Pironon, S., Prescott, T.A.K., Qi, Y.D., Qin, H., Quave, C.L., Rajaovelona, L., Razanajatovo, H., Reich, P.B., Rianawati, E., Rich, T.C.G., Richards, S.L., Rivers, M.C., Ross, A., Rumsey, F., Ryan, M., Ryan, P., Sagala, S., Sanchez, M.D., Sharrock, S., Shrestha, K.K., Sim, J., Sirakaya, A., Sjöman, H., Smidt, E.C., Smith, D., Smith, P., Smith, S.R., Sofo, A., Spence, N., Stanworth, A., Stara, K., Stevenson, P.C., Stroh, P., Suz, L.M., Tambam, B.B., Tatsis, E.C., Taylor, I., Thiers, B., Thormann, I., Trivedi, C., Twilley, D., Twyford, A.D., Ulian, T., Utteridge, T., Vaglica, V., Vázquez-Londoño, C., Victor, J., Viruel, J., Walker, B.E., Walker, K., Walsh, A., Way, M., Wilbraham, J., Wilkin, P., Wilkinson, T., Williams, C., Winterton, D., Wong, K.M., Woodfield-Pascoe, N., Woodman, J., Wyatt, L., Wynberg, R. & Zhang, B.G. 2020. State of the World's Plants and Fungi 2020. Royal Botanic Gardens, Kew.

Azevedo, V. Q., Silva, C. F. L., Lemões, J. S. & Farias, S.P. 2016. Caracterização de

biomassa visando à produção de etanol de segunda geração. *Revista Brasileira de Engenharia e Sustentabilidade* 2: 61-65

Bertéli, M. B. D., Barros, L., Reis, F. S., Ferreira, I. C., Glamoclija, J., Soković, M. & Colauto, N. B. 2021. Antimicrobial activity, chemical composition and cytotoxicity of *Lentinus crinitus* basidiocarp. *Food & Function*, 12: 6780–6792.

Bing, H., Harper, D. & Hammer, O. 2013. Introduction to PAST, a comprehensive statistics software package for paleontological data analysis. *Gushengwu xuebao* 52: 161-181

Boa, E. R. 2004. Wild edible fungi: a global overview of their use and importance to people. *Non-Wood Forest Products* 17. Food & Agriculture Organization of the United Nations. Roma

Bononi, V.L.R. 1981. Alguns Basidiomicetos hidnóides da região amazônica. *Rickia* 9: 17–30.

Bononi, V.L.R. 1984. Basidiomicetos do Parque Estadual da Ilha do Cardoso. IV. Adições às famílias *Hymenochaetaceae*, *Stereaceae* e *Thelephoraceae*. *Rickia* 11: 43–52.

Bononi, V.L. 1992. Fungos macroscópicos de Rio Branco, Acre, Brasil. *Hoehnea* 19: 31–37.

Bononi, V.L., Capelari, M. & Trufem, S.F.B. 1999. Cultivo de cogumelos comestíveis. 2 ed. Ícone. São Paulo.

Bononi, V.L.R., Oliveira, A.K.M., Quevedo, J.R. & Gugliotta, A.M. 2008. Fungos macroscópicos do Pantanal do Rio Negro, Mato Grosso do Sul, Brasil. *Hoehnea* 35: 489–511.

Castellani, A. 1967. Maintenance and cultivation of common pathogenic fungi in distilledwater. Further researches. *Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 42: 181–184.

Cavalcante, F.S.A., Campos, M.C.C. & De Lima, J.P.S. 2021. New Occurrences of Macrofungi (Basidiomycota) in Southern Amazonas, Brazil. *Ciência e Natura* 43:46.

Colla, I. M., Oliveira Filho, O. B. Q., Freitas, J. D. S., Berteli, M. B. D., Linde, G. A., Valle, J. S., Colauto, N. B. 2020. Mycelial biomass cultivation of *Lentinus crinitus*. *Bioscience Journal* 6: 2238-2246.

Corner, E. J. H. 1981. The agaric genera *Lentinus*, *Panus*, and *Pleurotus* with particular reference to Malaysian species. *Beihefte zur Nova Hedwigia* 1: 169.

Corrêa-Santos, M.P. 2020. Cogumelos comestíveis silvestres da Coleção de Culturas do Instituto de Botânica: diversidade e temperatura ótima de crescimento micelial *in vitro*. Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia, São Paulo.

Doyle, J. J. 1987. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochemical Bulletin* 19: 11-15.

Drechsler-Santos, E.R., Groposo, C. & Loguercio-Leite, C. 2008a. Additions to the knowledge of lignocellulolytic Basidiomycetes (Fungi) in forests from Santa Catarina State, Brazil. *Mycotaxon*. 103: 197–200.

Drechsler-Santos, E.R., Groposo, C. & Loguercio-Leite, C. 2008b. New records of lignocellulolytic fungi (Basidiomycetes) from the Atlantic Rain Forest in State of Santa Catarina, Brazil. *Hoehnea*. 35: 57–61.

Drechsler-Santos, E. R., Wartchow, F, Coimbra, V.R.M, Gibertoni, T.B. & Cavalcanti, M.A.Q. 2012. Studies on lentinoid fungi (*Lentinus* and *Panus*) from the semi-arid region of Brazil. *The Journal of the Torrey Botanical Society* 139: 437-446.

Dulay, R.M.R; Kalaw, S.P.; Reyes, R.G.; Cabrera, E.C. & Alfonso, N. F. 2012. Optimization of culture conditions for mycelial growth and basidiocarp production of *Lentinus tigrinus* (Bull.) Fr., a new record of domesticated wild edible mushroom in the Philippines. *Philippine Agricultural Scientist* 95: 278–285.

Dulay, R. M. R., Flores, K. S., Tiniola, R.C., Marquez, D.H.H., Cruz, A. G. D., Kalaw, S. P. & Reyes, R. G. 2015. Mycelial biomass production and antioxidant activity of *Lentinus tigrinus* and *Lentinus sajor-caju* in indigenous liquid culture. *Mycosphere* 6: 659-666.

Dulay, R.M., Rivera, A.G. & Garcia, E.J.B. 2017. Mycelial growth and basidiocarp production of wild hairy sawgill *Lentinus strigosus*, a new record of naturally occurring mushroom in the Philippines. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology* 10: 242–246.

Eira, F. C., Meirelles, W. F. & Meirelles, L. D. P. 2005. Shiitake production in corn cob substrates. *Revista Brasileira de Milho e Sorgo* 4: 141-148.

Erkel, G., Anke, T. & Sterner, O. 1996. Inhibition of NF- κ B activation by panepoxydone. *Biochemical and biophysical research communications* 226: 214-221.

Faria, M.G.I., Avelino, K. V., Valle, J. S., Silva, G. Q., Gonçalves Jr, A. C., Dragunski, D. C., Colauto, N. B. & Linde, G. A. 2019. Lithium bioaccumulation in *Lentinus crinitus* mycelial biomass as a potential functional food. *Chemosphere* 235: 538-542.

Fidalgo, O. 1965. Conhecimento micológico dos índios brasileiros. *Rickia* 2: 1-10.

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

Fidalgo, M.E.P.K. 1968. Contribution To The Fungi Of Mato Grosso, Brazil. *Rickia* 3, 171–219.

Fidalgo, O. & Hirata, J. M. 1979. Etnomicologia Caiabi, Txicão e Txucarramãe. *Rickia* 8: 1-5.

Fidalgo, O. & Poroca, D. J. M. 1986. Etnomicologia brasileira. *Boletín Micológico* 3: 9-19.

Fidalgo, O & Prance, G. T. 1976. The ethnomycology of the Sanama Indians. *Mycologia*

68: 201-210.

Figueiredo, A. & Silva, A. C. 2014. Atividade “in vitro” de extratos de *Pycnoporus sanguineus* e *Lentinus crinitus* sobre o fitopatogeno *Fusarium* sp. *Acta Amazonica* 44: 1–8.

Fungos in Flora e Funga do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB128473>>. Acesso em: 25 set. 2023

Fries, E. M. 1825. *Systema orbisvegetabilis*. Primas lineas novae constructionis periculator. Pars 1, Plantae Homonemeae. Lundae. 374

Gaudichaud-Beaupré, C. 1827. Voyage autour du Monde, Entrepris par Ordre du Roi, Exécuté sur les Corvettes de S.M. l'Uranie et la Physicienne. *Botanique* (Nagpur) 5: 161-208

Gibertoni, T.B., Parmasto, E. & Cavalcanti, M.A.Q. 2003. Non-poroid *Hymenochaetaceae* (Basidiomycota) of the Atlantic Rain Forest in Northeast Brazil. *Mycotaxon* 87: 437–443.

Gibertoni, T.B., Ryvarden, L. & Cavalcanti, M.A.Q. 2004. Poroid fungi (Basidiomycota) of the Atlantic Rain Forest in Northern Brazil. *Syn. Fungorum* 18: 33–43.

Gibertoni, T.B., Santos, P.J.P. & Cavalcanti, M.A.Q. 2007. Ecological aspects of Aphyllophorales in the Atlantic rain forest in northeast Brazil. *Fung. Diversity* 25: 49–67.

Góes-Neto, A., Loguercio-Leite, C. & Guerrero, R. T. 2005. DNA extraction from frozen field-collected and dehydrated herbarium fungal basidiomata: performance of SDS and CTAB-based methods. *Biotemas* 18: 19-32.

Góes-Neto, A., Marques, M.F.O., Andrade, J.D. & Santos, D.S. 2003. Lignicolous aphylloporoid Basidiomycota in an Atlantic Forest fragment in the semi-arid Caatinga region of Brazil. *Mycotaxon* 88: 359–364.

Gomes, D., Akamatsu, I., Souza, E & Figueiredo, G.J.B. 2016. Censo paulista de produção de cogumelos comestíveis e medicinais. *Pesquisa & Tecnologia* 13: 1-6.

Gomide, J.L., Colodette, J. L., Oliveira, R. C. & Silva, C.M. 2005. Caracterização tecnológica, para produção de celulose, da nova geração de clones de Eucalyptus do Brasil. *Revista Árvore*: 29: 129-137.

Grand, E. A. 2004. Systematics and species concepts in the genera *Lentinus* Fr. and *Panus* Fr., with emphasis on the *Lentinus tigrinus*, *L. crinitus* and *Panus lecomtei* complexes. " PhD dissertation., University of Tennessee.

Grand, E. A., Hughes, K. W. & Petersen, R. H. 2011. Relationships within *Lentinus* subg. *Lentinus* (Polyporales, Agaricomycetes), with emphasis on sects. *Lentinus* and *Tigrini*. *Mycological progress* 10: 399-413.

Grandi, R.A.P., Guzmán, G. & Bononi, V.L. 1984. Adições às Agaricales (Basidiomycetes) do Parque Estadual das Fontes do Ipiranga, São Paulo, SP, Brasil. *Rickia* 11: 27–33.

Groposo, C. & Loguercio-Leite, C. 2005. Contribution to the lignocellulolytic fungi (Basidiomycetes) of the Atlantic Rain Forest in Southern Brazil. *Mycotaxon* 92: 103–106.

Gugliotta, A.M., Fonsêca, M.P. & Bononi, V.L.R. 2010. Additions to the knowledge of aphyllorphoroid fungi (Basidiomycota) of Atlantic Rain Forest in São Paulo State, Brazil. *Mycotaxon* 112: 335-338.

Hawksworth, D. L. 2001. Mushrooms: the extent of the unexplored potential. *International journal of medicinal mushrooms* 3: 333-337.

He, M.Q., Zhao, R. L., Hyde, K. D., Begerow, D., Kemler, M., Yurkov, A., Mckenzie, E. H. C., Raspe, O., Kahishima, M., Sanches-Ramirez, S., Vellinga, E. C., Halling, R., Papp, V., Zmitrovich, I. V., Buyck, B., Ertz, D., Wijayawardene, N. N., Cui, B. K., Schoutteten, N., Liu, X. Z., Li, T. H., Yao, Y. J., Zhu, X. Y., Liu, A. Q., Li, G. J., Zhang, M. Z., Ling, Z. L., Cao, B., Antonin, V., Boekhout, T., Silva, B. D. B., Chop, E., Decock, C., Dima, B., Dutta, A. K., Fell, J. W., Geml, J., Ghobad-Nejhad, M., Giachini, A. J., Gibertoni, T. B., Gorjon, S. P., Haelewaters, D., He, S. H., Hodgkinson, B. P., Horak, E., Hoshino, T., Justo, A., Lim, Y. W., Menolli Jr, N., Mesic, A., Moncalvo, J. M., Mueller, M. G., Nagy, L. G., Nilsson, R. H., Noordeloos, M., Nuytinck, J., Orihara, T., Ratchadawan, C., Rajchenberg, M., Silva-Filho, A. G. S., Sulzbacher, M. A., Tkalcic, Z., Valenzuela, R., Verbeken, A., Vizzini, A., Wartchow, F., Wei, T. Z., Weib, M., Zhao, C. H. & Kirk, P. M. 2019 Notes, outline and divergence times of Basidiomycota. *Fungal diversity* 99: 105-367.

Hennings, P. 1904a. Fungi Amazonici I. a cl. E. Ule collecti. *Hedwigia*. 43: 154–186.

Hennings, P. 1904b. Fungi S. Paulenses III a cl. Puttemans collecti. *Hedwigia* 43: 197–209.

Hibbett, D. S. & Vilgalys, R. 1993. Phylogenetic relationships of *Lentinus* (Basidiomycotina) inferred from molecular and morphological characters. *Systematic Botany* 18: 409-433.

Hoa, H. T. & Wang, C. L. 2015 The effects of temperature and nutritional conditions on mycelium growth of two oyster mushrooms (*Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus cystidiosus*). *Mycobiology* 43:14-23.

Ishikawa, N.K., Vargas-Isla, R., Gomes, D. & Menolli Jr., N. 2017. Principais cogumelos comestíveis cultivados e nativos do estado de São Paulo. *Pesquisa & Tecnologia* 14: 1-7.

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

Justo, A., Miettinen, O., Floudas, D., Ortiz-Santana, B., Sjökvist, E., Lindner, D., Nakasone, K., Niemela, T., Larsson, K.H., Ryvarden, L. & Hibbett, D.S. 2017. A revised family-level classification of the Polyporales (Basidiomycota). *Fungal biology* 121: 798-824.

Kalaw, S. P., Dulay, R. M. R., Damaso, E. J., Ramos, J. C., Rosario, M. A. G., Abon, M. D., Leon, A. M., Undan, J R. & Reyes, R. G. 2021. Optimization of Mycelial Culture

Conditions and Fructification of *Lentinus* Species Using Rice Straw and Sawdust Based Substrates. *Studies in Fungi* 6: 519-530.

Katoh, K. & Standley, D. M. 2013. MAFFT multiple sequence alignment software version 7: improvements in performance and usability. *Molecular biology and evolution*, Oxford 30: 772-780.

Kendrick, B. 2017. The Fifth Kingdom: An Introduction to Mycology 4: 502.

Klomklung, N., Karunarathna, S. C., Chukeatirote, E. & Hyde, K. D. 2012. Domestication of wild strain of *Pleurotus giganteus*. *Sydowia* 64: 39-53.

Krüger, D., Hughes, K. & Petersen, R. 2008. Notes on the molecular phylogeny of the 'Polyporellus' group within Polyporus: identity of collections from Canada and Ecuador, and relationships with *Lentinus*. *Sydowia* 60: 213-233.

Lentinus in Flora e Funga do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB92498>>. Acesso em: 16 out. 2023

Lechner, B.E. & Albertó, E. 2011. Search for new naturally occurring strains of *Pleurotus* to improve yields. *Pleurotus albidus* as a novel proposed species for mushroom production. *Revista Iberoamericana de Micologia* 28: 148-154.

Leon, A.M, Guinto, L.J, Ramos, P.D & Kalaw, S.P. 2017. Enriched cultivation of *Lentinus squarrosulus* (Mont.) Singer: a newly domesticated wild edible mushroom in the Philippines. *Mycosphere* 8: 615-29.

Li, H., Tian, Y., Menolli Jr, N., Ye, L., Karunarathna, S. C, Perez-Moreno, J, Rahman, M. M, Rashid, M.H, Phengsitham P., Rizal, L, Kasuya T., Lim, Y. W, Dutta, A. K, Khalid, A. N., Huyen, L. T, Balolong, M.P, Baruah, G, Madawala, S., Thongklang, N., Hyde, K. D., Kirk, P.M., Xu, J., Sheng, J., Boa, E. & Mortimer, P. E. 2021 Reviewing the world's edible mushroom species: A new evidence-based classification system. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 20: 1982-2014.

Magan, N. 1997. Fungi in extreme environments. In: *Mycota. Environmental and Microbial Relationships*. Berlin: Springer Verlag 4: 99–114.

Magnusson, W. E., Ishikawa, N. K, Lima, A. P., Dias, D. V., Costa, F. M., Holanda, A. S. S., Santos, G. G.A., Freitas, M. A., Rogdrigues, D. J., Pezzini, F. F., Barreto, M. R., Baccaro, F. B., Emilio, T. & Vargas-Isla, R. 2016. A linha de véu: a biodiversidade brasileira desconhecida. *Parcerias Estratégicas* 21: 45-60.

Maia, L. C., Carvalho Jr, A. A., Cavalcanti, L.H., Gugliotta, A. M., Drechsler-Santos, E. R., Santiago, A. L.M.A., Cáceres, M. E. S., Gibertoni, T. B., Aptroot, A., Giachini, A. J., Soares, A. M. S., Silva, A. C.G., Magnago, A. C., Goto, B. T., Lira, C. R.S., Montoya, C. A.S., Pires-Zottarelli, C. L.A., Silva, D.K.A., Soares, D. J., Rezende, D H.C., Luz, E.D.M.N., Gumboski, E.L., Wartchow, F., Karstedt, F., Freire, F. M., Coutinho, F.P., Melo, G. S. N., Sotão, H. M. P., Baseia, I. G., Pereira, J., Oliveira, J. J.S., Souza, J. F., Bezerra, J.L., Neta, L. S. A., Pfenning, L.H., Gusmão, L.F.P., Neves, M. A., Capelari, M., Jaeger, M.C.W., Pulgarín, M. P., Menolli Jr., N., Medeiros, P.S., Friedrich, R.C.S.,

- Chikowski, R.S., Pires, R. M., Melo, R.F., Silveira, R.M.B., Urrea-Valencia, S., Cortez, V.G. & Silva, V. F.** 2015. Diversity of Brazilian Fungi. *Rodriguésia* 66: 1033–1045.
- Maki, C. S. & Paccola-Meirelles, L.D.** 2002. Characterization and cultivation of a wild mushroom species isolated in Brazil. *Semina: Ciências Biológicas e da Saúde* 23: 77-82.
- Marim, R. A., Avelino, K.V.; Linde, G.A. & Colauto, N.B.** 2018. *Lentinus crinitus* strains respond differently to cultivation pH and temperature. *Genetics and Molecular Research* 17: 1-7.
- Meijer, A.A.R.** 2001. Mycological work in the Brazilian state of Paraná. *Nova Hedwigia* 72: 105-159.
- Meijer, A.A.R.** 2006. Preliminary list of the macromycetes from the Brazilian state of Paraná. *Bol. do Mus. Botânico Munic. Curitiba* 68, 1–55.
- Meijer, A.A.R.** 2008. Macrofungos notáveis das Florestas de Pinheiro-do-Paraná. Embrapa Florestas, Colombo.
- Miles, P. G. & Chang, S.T.** 2004. Mushrooms: cultivation, nutritional value, medicinal effect, and environmental impact. CRC press.1-477.
- Miller, M. A., Pfeiffer, W. & Schwartz, T.** 2011. The CIPRES science gateway: a community resource for phylogenetic analyses. In: *Proceedings of the 2011 TeraGrid Conference: extreme digital discovery*. pp. 1-8.
- Miller, O. K.** 1973. Mushrooms of North America. Dutton. New York.
- Mswaka, A. Y. & Magan, N.** 1999 Temperature and water potential relations of tropical *Trametes* and other wood-decay fungi from the indigenous forests of Zimbabwe. *Ycological Research* 103: 1309-1317.
- Navarro, P. & Savoie, J. M.** 2015. Selected wild strains of *Agaricus bisporus* produce high yields of mushrooms at 25 C. *Revista Iberoamericana de Micología* 32: 54-58.
- Niazi, A. R., Ghafoor, A. & Laraib, R.** 2022. Domestication of a wild edible and nutritious mushroom *Lentinus tigrinus* from Pakistan. *Horticultura Brasileira* 40: 288-294.
- Niskanen, T., Lücking, R., Dahlberg, A., Gaya, E., Suz, L. M., Mikryukov, V., Liimatainen, K., Druzhinina, I., Westrip, J. R. S., Mueller, G.M., Martins-Cunha, K., Kirk, P., Tedersoo, L. & Antonelli, A.** 2023. Pushing the frontiers of biodiversity research: Unveiling the global diversity, distribution, and conservation of fungi. *Annual Review of Environment and Resources* 48: 149-176.
- Pegler, D. N.** 1971. *Lentinus* Fr. and related genera from Congo – Kinchasa (Fungi) *Bulletin Jardim Botânico Natural da Bélgica*. 273 – 281.
- Pegler, D. N.** 1975. The classification of the genus *Lentinus* Fr. (Basidiomycota). *Kavaka*.
- Pegler, D.N.** 1983. The genus *Lentinus*: a world monograph. *Kew Bulletin Additional Series*

10: 281

Pereira, A.B. 1988. O gênero *Pleurotus* (Fr.) Kummer no Rio Grande do Sul, Brasil. Caderno de Pesquisa série Botânica 1: 19-45.

Prance, G. T. 1973. The mycological diet of the Yanomam Indians. *Mycologia* 65: 248-250.

Prance, G. T. 1984. The use of edible fungi by Amazonian Indians. *Advances in Economic Botany* 1: 127-139.

Redhead, S. A. & Ginns, J. H. 1985. A reappraisal of agaric genera associated with brown rots of wood. *Transaction Mycological Society Japan* 26: 349-381.

Royse, D. J., Baars, J. & Tan, Q. 2017. Current overview of mushroom production in the world. In: ZIED, D.C.; PARDO-GIMÉNEZ, A. (Eds.). (2017) *Edible and medicinal mushrooms: technology and applications*. John Wiley & Sons, Nova Jersey, pp. 5-13.

Rossi, I. H., Monteiro, A. C., Machado, J. O. & Barbosa, J. C. 2003. Supplementation of sugarcane bagasse with rice bran and sugarcane molasses for shiitake (*Lentinula edodes*) spawn production. *Brazilian Journal of Microbiology* 34: 61-65

Ruegger, M.J.S., Tournisielo, S.M.T., Bononi, V.L.R. & Capelari, M. 2001. Cultivation of edible mushroom *Oudemansiella canarii* (Jungh.) Höhn. in lignocellulosic substrates. *Brazilian Journal of Microbiology* 32: 211–214.

Rune, F. 1994 *Neolentinus* - a well-founded genus in Pleurotaceae that includes *Heliocybe*. *Mycological Research* 98: 542-544.

Santos, F. 2017. Manual de Cogumelos Comestíveis no Distrito Federal. 1 ed. Gráfica Ipanema. Goiânia.

Santos Filho, J. R., Silva Santos, E., Linde, G. A., Colauto, N. B., Gonçalves, R. A. C. & Oliveira, A. J. B. 2023. *Lentinus crinitus*: traditional use, phytochemical and pharmacological activities, and industrial and biotechnological applications. *Food Research International* 172: 1-9.

Sanuma, M., Maertins, M.S., Menolli Jr., N., Ishikawa, N.K. & Apiammö, R.S. 2016. (Orgs.). Ana amopö – Cogumelos. Enciclopédia dos alimentos Yanomami (Sanöma). Instituto Socioambiental. São Paulo.

Seelan, J. S. S., Justo, A., Nagy, L.G., Grand, E.A., Redhead, S. A. & Hibbett, D. 2015. Phylogenetic relationships and morphological evolution in *Lentinus*, *Polyporellus* and *Neofavolus*, emphasizing southeastern Asian taxa. *Mycologia*, Lawrence 107: 460-474.

Seelan, J. S. S., Justo, A., Nagy, L.G., Grand, E.A., Redhead, S. A. & Hibbett, D. 2016. Nomenclatural novelties: *Neofavolus suavissimus* comb. nov. *Index Fungorum* 308.

- Sharma, S. K. & Atri, N. S.** 2014 Nutraceutical composition of wild species of genus *Lentinus* Fr. from Nothern India. *Current Research in Environmental & Applied Mycology* 4: 11-32.
- Singer, R.** 1951 The Agaricales (Mushrooms) in modern taxonomy. Lilloa. Tucuman.
- Singer, R.** 1961. The Agaricales (Mushrooms) in modern taxonomy. 2 ed. Lilloa, Tucuman.
- Singer, R.** 1986. The Agaricales in Modern Taxonomy. 3rd ed. Sven Koeltz Scientific Books. Koenigstein.
- Singer, R.** 1953. Type studies on Basidiomycets 4ed. Lilloa. Tucuman.
- Silva-Neto, C. M., Pinto, D. S., Santos, L.A.C. & Calaça, F.J.S.** 2019. Bromatological aspects of *Lentinus crinitus* mushroom (Basidiomycota: Polyporaceae) in agroforestry in the Cerrado. *Food Science and Technology. Karnataka* 40: 659-664.
- Sk, S. & Atri, N. S.** 2014. Nutraceutical composition of wild species of genus *Lentinus* Fr. from Nothern India. *Current Research in Environmental & Applied Mycology* 4: 11-32.
- Sotão, H.M., Hennen, J.F., Gugliotta, A.M., Melo, O.A. & Campos, E.L.** 1997. Os Fungos Basidiomycotina. Caxiuanã. Museu Paraense Emílio Goeldi 4: 213-219.
- Sotão, H.M.P., Bononi, V.L.R. & Figueiredo, T.S.** 1991. Basidiomycetes de manguezais da Ilha de Maracá, Amapá, Brasil. *Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi, série Botânica* 7: 109–114.
- Sotão, H.M.P., Campos, E.L., Costa, S.P.S.E.C., Melo, A.O. & Azevedo, J.C.** 2002. Basidiomycetes macroscópicos de manguezais de Bragança, Pará, Brasil. *Hoehnea* 29: 215–224.
- Sotão, H.M.P., Campos, E.L., Gugliotta, A.M. & Costa, S.P.S.E.** 2003. Fungos macroscópicos: Basidiomycetes. In: Fernandes, M.E.B. org. Os manguezais da costa norte brasileira. Maranhão. Fundação Rio Bacanga, pp 45-59
- Spegazzini, C.** 1889. Fungi Puiggariani. Pugillus 1. *Boletín de la Academia Nacional de Ciencias en Córdoba* 11: 381–622.
- Teixeira, A.R.** 1946. Himenomicetos brasileiros – III (Agaricaceae). *Bragantia* 6: 165–188.
- Theissen, F.** 1912. Hymenomycetes Riograndenses. *Broteria, serie botânica* 10: 5–28.
- Timm, J. M.** 2018. Primavera Fungi: guia de fungos do Sul do Brasil. Via Sapiens, Porto Alegre.
- Timm, J. M.** 2021 Primavera Fungi: guia de fungos do Sul do Brasil. 2 ed. Via Sapiens, Porto Alegre
- Timm, J. M.** 2022. Primavera Fungi: Cogumelos comestíveis do Brasil. Via Sapiens, Porto Alegre.

Trierveiler-Pereira, L. 2019. FANCs de Angatuba. **Fungos** alimentícios não convencionais de Angatuba e região. 1 ed. PLUS / Simplíssimo, Porto Alegre.

Trierveiler-Pereira, L. 2022. FANCs de Angatuba. Fungos alimentícios não convencionais de Angatuba e região. 2 ed. PLUS / Simplíssimo, Porto Alegre.

Umeo, S.H., Souza, G.P.N., Rapachi, P.M., Garcia, D.M., Paccola-Meirelles, L.D., Valle, J.S., Colauto, N.B. & Linde, G.A. 2015. Screening of basidiomycetes in submerged cultivation based on antioxidant activity. *Genetics and Molecular Research* 14: 9907-9914.

Urban, A.F. 2000. Formulações e preparo de meios para “sementes”. In: Urban, A.F.; Amazonas, A.; Uriartt, A.; Correia, M.; Vieira, W.; Oliveira, H.C.B. Curso cultivo de cogumelos comestíveis e medicinais. Brasília: Embrapa.

Vargas-Isla, R. & Ishikawa, N. K. 2008. Optimal conditions of in vitro mycelial growth of *Lentinus strigosus*, an edible mushroom isolated in the Brazilian Amazon. *Mycoscience* 49: 215-219.

Vargas-Isla, R., Ishikawa, N. K. & Py-Daniel, V. 2013. Contribuições etnomicológicas dos povos indígenas da Amazônia. *Biota Amazônia* 3: 58-65.

Vieira, S. 1980. Introdução à bioestatística. 3 ed. Editora Campus. Rio de Janeiro.

Wasser, S. P. 2010. Medicinal mushroom science: history, current status, future trends, and unsolved problems. *International journal of medicinal mushrooms* 12: 1-16.

White, T.J., Bruns, T. L. S. & Taylor, J.W. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: Innis M.A, Gelfand D.H, Sninsky J.J, White T.J. (eds.). PCR protocols: a guide to methods and applications. Academic Press. Nova Iorque, pp. 315–322.

Willis, K. J. 2018. State of the world's fungi 2018. Kew: Royal Botanic Gardens. Richmond.

Zervakis, G., Philippoussis, A., Ioannidou, S. & Diamantopoulou, P. 2001. Mycelium growth kinetics and optimal temperature conditions for the cultivation of edible mushroom species on lignocellulosic substrates. *Folia Microbiologica* 46: 231- 234.

APÊNDICES

APÊNDICE A – Lista dos espécimes de *Lentinus* e *Panus* da coletados para este trabalho e/ou recuperados da Coleção de Cultura do Instituto de Pesquisas Ambientais (CCIBt).

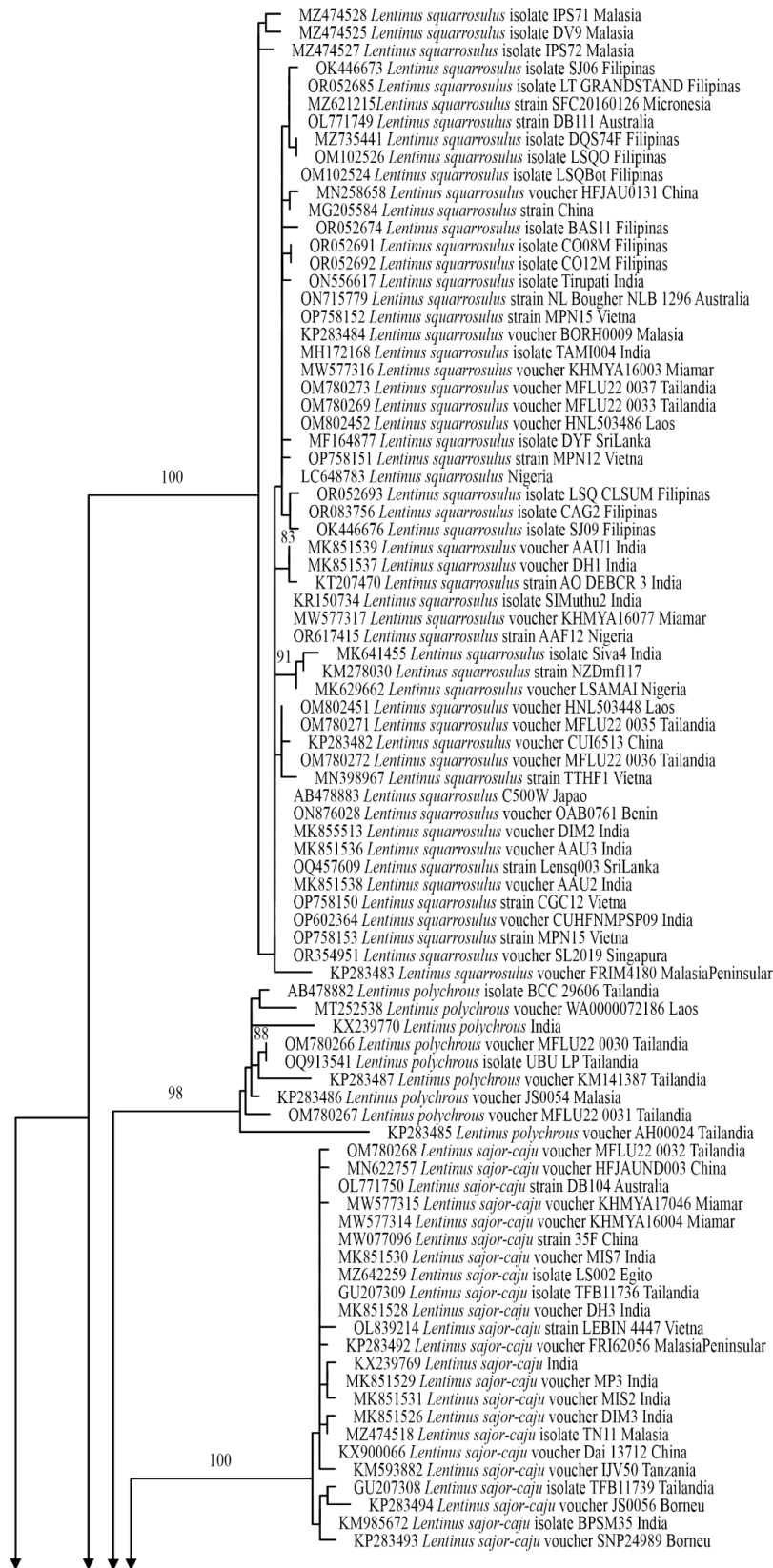
Táxon	Voucher	Nº coleção	Cultura	Seq. ITS	Localidade de coleta
<i>cf Lentinus</i>	MPCS23	-			São Paulo-SP
<i>Lentinus berteroi</i>	DAZ143	FIFUNGI417		X	Limeira-SP
<i>Lentinus berteroi</i>	CCIBt2511			X	Mogi das Cruzes-SP
<i>Lentinus berteroi</i>	CCIBt2868		X	X	Ilha do Cardoso-SP
<i>Lentinus berteroi</i>	CCIBt3008		X	X	São José do Rio Preto-SP
<i>Lentinus berteroi</i>	CCIBt3009		X	X	São José do Rio Preto-SP
<i>Lentinus berteroi</i>	CCIBt3005		X	X	São Paulo-SP
<i>Lentinus berteroi</i>	CCIBt3006		X	X	São Paulo-SP
<i>Lentinus berteroi</i>	CCIBt3369		X	X	São Paulo-SP
<i>Lentinus berteroi</i>	B6MICIFSP11	SP528783		X	Iporanga-SP
<i>Lentinus berteroi</i>	MPD367	SP528757		X	Iporanga-SP
<i>Lentinus berteroi</i>	MPD248	SP528746	X*	X	Cananeia-SP
<i>Lentinus cf. berteroi</i>	NMJ354	FIFUNGI60			São Paulo-SP
<i>Lentinus cf. berteroi</i>	NMJ366	FIFUNGI72			São Sebastião-SP
<i>Lentinus cf. berteroi</i>	NMJ377	FIFUNGI77			São Sebastião-SP
<i>Lentinus cf. berteroi</i>	NMJ356	FIFUNGI62			São Paulo-SP
<i>Lentinus cf. berteroi</i>	NMJ373	FIFUNGI75			São Sebastião-SP
<i>Lentinus concavus</i>	NMJ430	FIFUNGI124	X	X	Iporanga-SP
<i>Lentinus concavus</i>	NMJ433	FIFUNGI125	X*	X	Iporanga-SP
<i>Lentinus concavus</i>	MPCS4				Paraty-RJ
<i>Lentinus concavus</i>	MPCS6	FIFUNGI41	X*	X	Ilha do Cardoso-SP
<i>Lentinus concavus</i>	MPCS9				Ilha do Cardoso-SP
<i>Lentinus concavus</i>	MPCS10	FIFUNGI43			Ilha do Cardoso-SP
<i>Lentinus concavus</i>	MPCS12	FIFUNGI44			Ilha do Cardoso-SP
<i>Lentinus concavus</i>	MPCS16	FIFUNGI51			Iporanga-SP
<i>Lentinus concavus</i>	MPD193	SP528736		X	Iporanga-SP
<i>Lentinus concavus</i>	MPD374	FIFUNGI18			Iporanga-SP
<i>Lentinus concavus</i>	MPD385	FIFUNGI19			Iporanga-SP
<i>Lentinus concavus</i>	NMJ413	FIFUNGI100	X*		Paraty-RJ
<i>Lentinus crinitus</i>	NMJ355	FIFUNGI61	X*		São Paulo-SP
<i>Lentinus crinitus</i>	NMJ357	FIFUNGI63	X*	X	São Paulo-SP
<i>Lentinus crinitus</i>	NMJ358	FIFUNGI344	X*	X	São Paulo-SP
<i>Lentinus crinitus</i>	NMJ372	FIFUNGI74	X*	X	São Sebastião-SP
<i>Lentinus crinitus</i>	MPD357				Cananeia-SP
<i>Lentinus crinitus</i>	MPD429	FIFUNGI22	X	X	São Luís do Paraitinga-SP

Táxon	Voucher	Nº coleção	Cultura	Seq. ITS	Localidade de coleta
<i>Lentinus berteroi</i>	MPCS17	FIFUNGI457	X	X	Iporanga-SP
<i>Lentinus crinitus</i> *	MPCS43	FIFUNGI460	X*	X	Paraty-RJ
<i>Lentinus crinitus</i>	MPCS74	FIFUNGI419	X	X	São Paulo-SP
<i>Lentinus berteroi</i>	MPCS86	FIFUNGI412	X*	X	São Paulo-SP
<i>Lentinus berteroi</i>	MPCS88	FIFUNGI136	X	X	Caraguatatuba-SP
<i>Lentinus crinitus</i>	MPCS91	FIFUNGI145	X*	X	Caraguatatuba-SP
<i>Lentinus berteroi</i>	MPCS92	FIFUNGI151	X	X	Caraguatatuba-SP
<i>Lentinus berteroi</i>	MPCS95	FIFUNGI152	X*	X	Caraguatatuba-SP
<i>Lentinus crinitus</i>	MPCS96	FIFUNGI153	X	X	Caraguatatuba-SP
<i>Lentinus crinitus</i>	MPCS83	FIFUNGI121	X*	X	Ilhabela-SP
<i>Lentinus crinitus</i>	NCC132	FIFUNGI97	X*	X	São Paulo-SP
<i>Lentinus crinitus</i>	NMJ456		X	X	São Paulo-SP
<i>Lentinus crinitus</i>	PNT2		X*	X	Recife-PE
<i>Lentinus scleropus</i>	MPCS72		X*		São Paulo-SP
<i>Lentinus scleropus</i>	MPCS38	FIFUNGI456		X	São Paulo-SP
<i>Lentinus</i> sp.	MPD224				São Francisco de Paula-RS
<i>Lentinus</i> sp.	MPD339	FIFUNGI445			Cananeia-SP
<i>Lentinus</i> sp.	MPD350	FIFUNGI448			Cananeia-SP
<i>Lentinus</i> sp.	MPD356				Cananeia-SP
<i>Lentinus</i> sp.	MPD362	FIFUNGI447			Cananeia-SP
<i>Lentinus</i> sp.	MPD427				São Luís do Paraitinga-SP
<i>Lentinus</i> sp.	MPD430	FIFUNGI446			São Luís do Paraitinga-SP
<i>Lentinus</i> sp.	MPD482	FIFUNGI444			Corumbá-MS
<i>Lentinus</i> sp.	MPD490	FIFUNGI443			Corumbá-MS
<i>Lentinus</i> sp.	NMJ270				São Paulo-SP
<i>Lentinus</i> sp.	MPD558	FIFUNGI418			Teresópolis-RJ
<i>Lentinus</i> sp.	MPCS11	FIFUNGI461			Cananeia-SP
<i>Lentinus</i> sp.	MPCS8	FIFUNGI465			Cananeia-SP
<i>Lentinus</i> sp.	MPCS15	FIFUNGI463			Iporanga-SP
<i>Lentinus</i> sp.	MPCS18	FIFUNGI416			Iporanga-SP
<i>Lentinus</i> sp.	MPCS20	FIFUNGI466			São Paulo-SP
<i>Lentinus</i> sp.	MPCS21				Monte Alegre do Sul-SP
<i>Lentinus</i> sp.	MPCS39				Paraty-RJ
<i>Lentinus</i> sp.	MPCS40				Paraty-RJ
<i>Lentinus</i> sp.	MPCS41	FIFUNGI462			Paraty-RJ
<i>Lentinus</i> sp.	MPCS42				Paraty-RJ
<i>Lentinus</i> sp.	MPCS44	FIFUNGI415		X**	Paraty-RJ

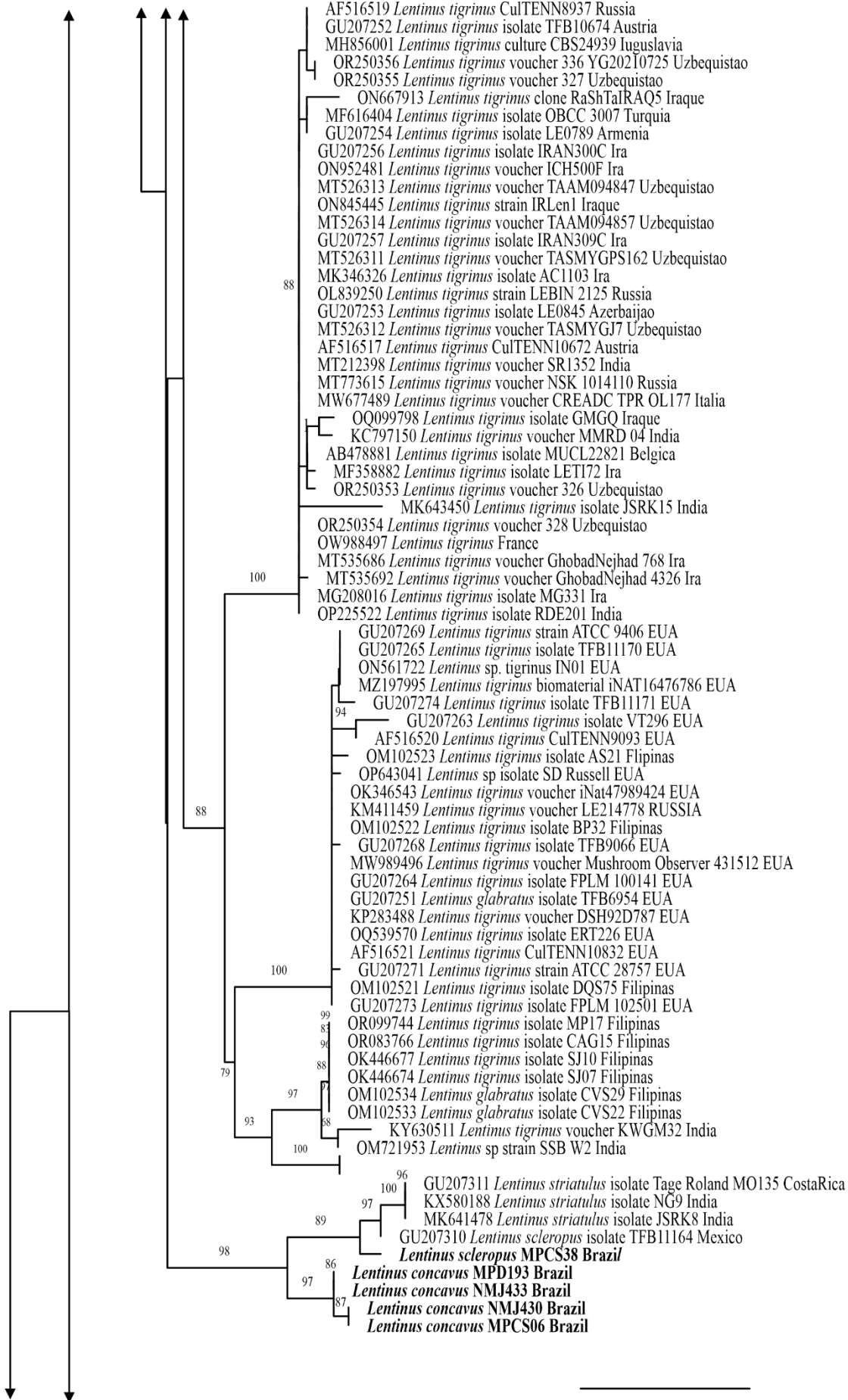
Táxon	Voucher	Nº coleção	Cultura	Seq. ITS	Localidade de coleta
<i>Lentinus</i> sp.	MPCS94			X**	Caraguatatuba-SP
<i>Lentinus</i> sp.	MPCS81			X**	Ilhabela-SP
<i>Lentinus berteroi</i>	MPCS84	FIFUNGI122	X	X	Ilhabela-SP
<i>Lentinus</i> sp.	MPCS97	FIFUNGI255		X**	Caraguatatuba-SP
<i>Lentinus</i> sp.	MPD330	FIFUNGI414	X*	X**	Cananeia-SP
<i>Lentinus</i> sp.	NCC131	FIFUNGI96			São Paulo-SP
<i>Panus</i> sp.	NMJ365	FIFUNGI452			São Paulo-SP
<i>Panus</i> sp.	NMJ382				Paraty-RJ
<i>Panus</i> sp.	NMJ383				Paraty-RJ
<i>Panus</i> sp.	NMJ412	FIFUNGI99	X		Paraty-RJ
<i>Panus strigellus</i>	MPCS80	FIFUNGI459	X	X	Ilhabela-SP

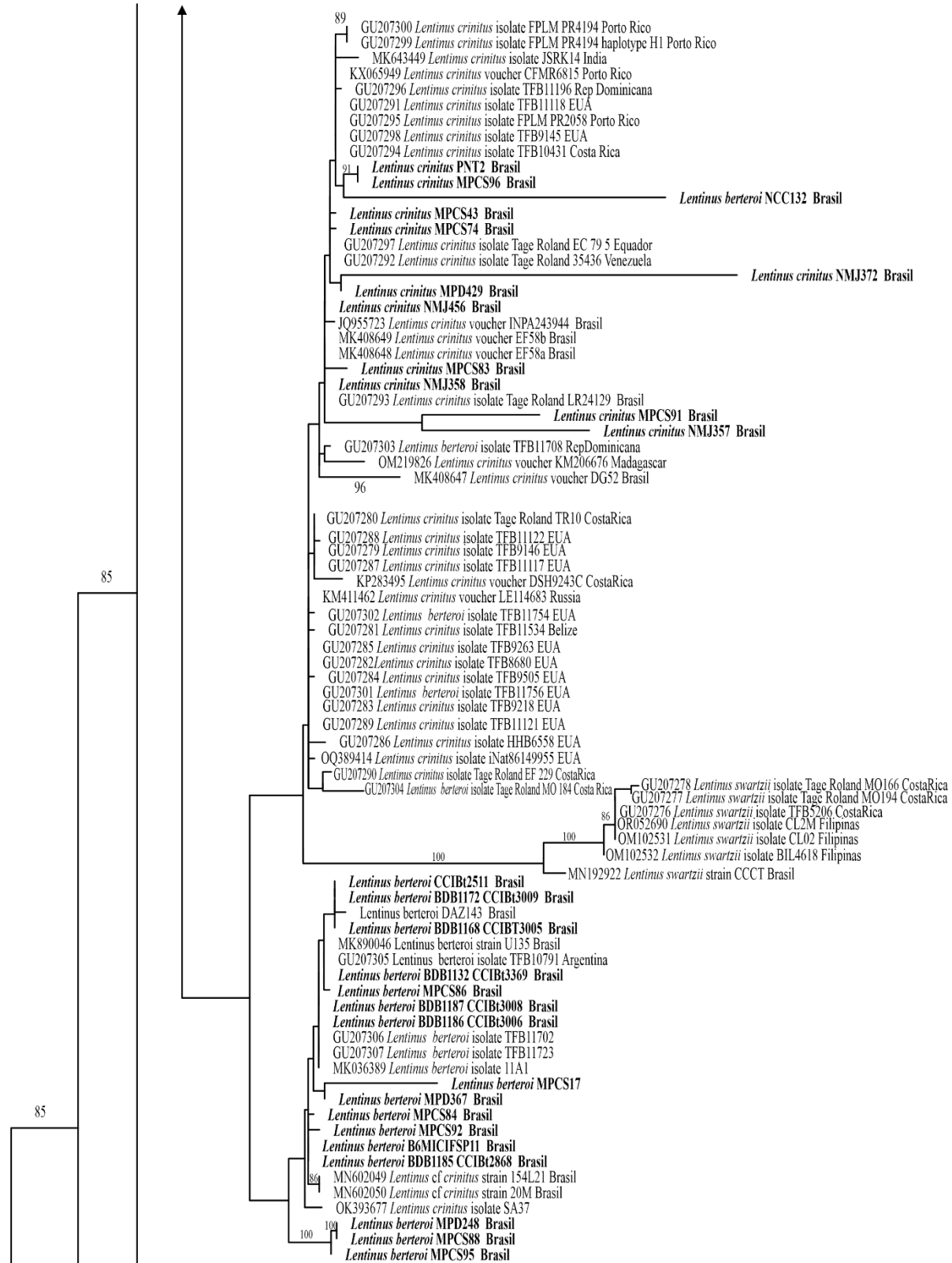
As culturas marcadas com um asterisco (*) não foram possíveis serem recuperados devido ao cronograma deste trabalho, mas que ainda podem estar viáveis. As sequências marcadas com dois asteriscos representam culturas de fungos contaminantes.

APÊNDICE B – Árvore filogenética do gênero *Lentinus* baseada em sequências de ITS e no método de Máxima Verossimilhança (MV). As sequências em **negrito** representam as sequências geradas neste trabalho. Os números acima dos ramos representam valor de *bootstrap* $\geq 70\%$. Voucher/isolado/clone ou número de herbário e país de origem seguem o nome do táxon e o número de acesso do GenBank.



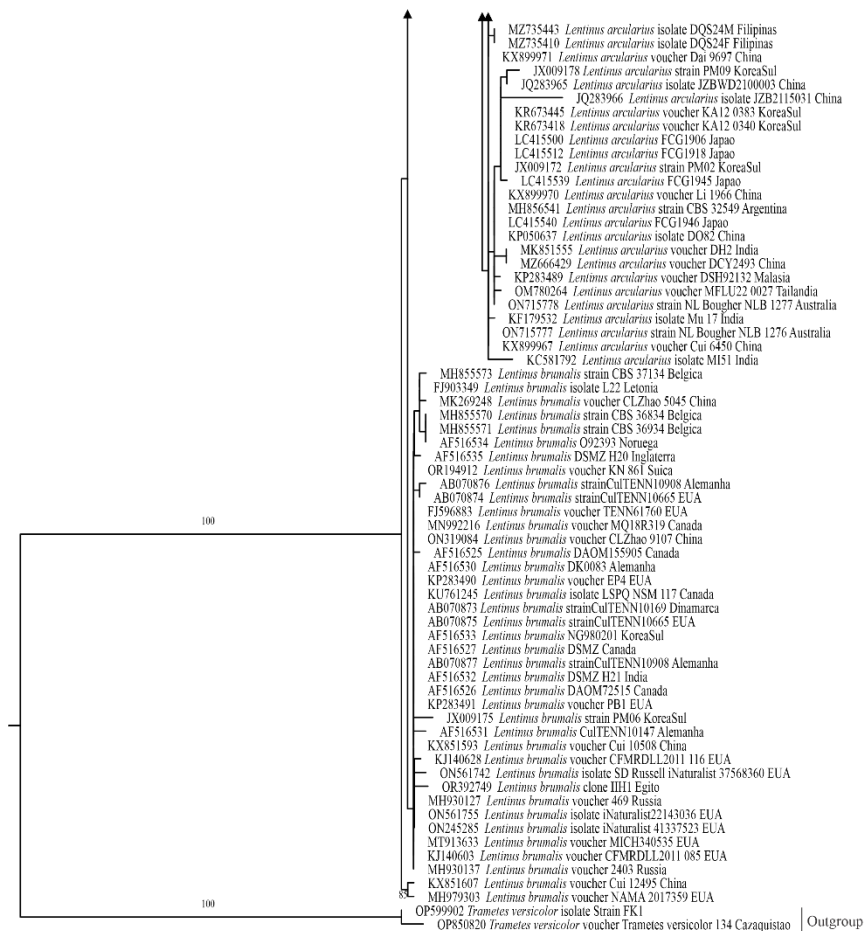
0.05







0.05



0.05