

Marcel Comin

**ESTUDO SISTEMÁTICO DO COMPLEXO TAXONÔMICO
FUSCOPORIA GILVA (SCHWEIN.) T. WAGNER & M. FISCH.
(HYMENOCHAETACEAE, BASIDIOMYCOTA)**

Dissertação submetida ao Programa de Pós Graduação em Biologia de Fungos, Algas e Plantas da Universidade Federal de Santa Catarina para a obtenção do Grau de Mestre em Biologia de Fungos, Algas e Plantas

Orientador: Prof. Dr. Elisandro Ricardo Drechsler dos Santos.

Coorientador: Prof. Dr. Aristóteles Góes Neto

Florianópolis

2018

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca
Universitária da UFSC.

Comin, Marcel

ESTUDO SISTEMÁTICO DO COMPLEXO TAXONÔMICO
FUSCOPORIA GILVA (SCHWEIN.) T. WAGNER & M. FISCH.
(HYMENochaetaceae, Basidiomycota) / Marcel Comin ;
orientador, Elisandro Ricardo Drechsler dos
Santos, coorientador, Aristóteles Góes Neto, 2018.
56 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de
Santa Catarina, Centro de Ciências Biológicas,
Programa de Pós-Graduação em Biologia de Fungos,
Algas e Plantas, Florianópolis, 2018.

Inclui referências.

1. Biologia de Fungos, Algas e Plantas. 2.
Micologia. 3. Sistemática. 4. Taxonomia. 5.
Fuscoporia gilva. I. Drechsler dos Santos,
Elisandro Ricardo. II. Góes Neto, Aristóteles . III.
Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de
Pós-Graduação em Biologia de Fungos, Algas e Plantas.
IV. Título.

**“Estudo sistemático do complexo
taxonômico *Fuscoporia gilva* (Schwein)
T. Wagner & M. Fisch
(Hymenochaetaceae, Basidiomycota)”**

por

Marcel Comin

Dissertação julgada e aprovada em
sua forma final pelos membros
titulares da Banca Examinadora
(Port. 07/PPGFAP/2018) do
Programa de Pós-Graduação em
Biologia de Fungos, Algas e Plantas
- UFSC, composta pelos Professores
Doutores:

Banca Examinadora:



Prof. Dr. Elisandro Ricardo Dechsler dos Santos



Profa. Dra. Claudia Julia Groposo Silveira - Videoconferência



Profa. Dra. Olga Maria Camacho Hadad



Prof. Dr. Pedro Fiaschi

Coordenador do Programa de Pós-Graduação
em Biologia de Fungos, Algas e Plantas

Este trabalho é dedicado a minha
mãe Marlei Wansovicz Comin e ao
meu pai Nery Sebastião Comin.

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar agradeço a minha mãe Marlei Wansovicz Comin que me carregou em seu ventre durante nove meses, ao meu pai Nery Sebastião Comin por me incentivar ao interesse pela ciência e aos dois por ter proporcionado uma educação digna e apoiado meus estudos acadêmicos, sem o apoio deles não chegaria onde estou nem seria quem sou.

Obrigado a todos os meus professores, ao meu orientador Prof. Dr. Elisandro Ricardo Drechsler dos Santos, com quem aprendi muito sobre o mundo dos fungos e também sobre a vida acadêmica, ao meu co-orientador Prof. Dr. Aristóteles Góes Neto, pelo apoio na pesquisa, pois sem sua ajuda nosso trabalho não teria êxito, a Prof. Dr. Maria Alice Neves, por compartilhar seus conhecimentos micológicos dentro e fora dos laboratórios e pelo apoio em momentos difíceis da caminhada acadêmica e em especial minha mãe que foi minha primeira professora e maior incentivadora de meus estudos, pois como ela sempre me lembra o conhecimento e o estudo é a melhor herança que se pode herdar.

A minha companheira e amiga Camila Benatti Policastro por compartilhar comigo momentos prazerosos e me apoiar em horas difíceis, sempre me incentivando a continuar caminhando em melhorando a cada dia.

A todos os meus amigos novos e velhos.

Resumo

Fuscoporia gilva é um táxon com ampla variação morfológica caracterizado principalmente por apresentar basidiomas bissazonais, raramente perenes, com píleo tomentoso ou com a superfície superior finamente velutinada, setas himeniais ventricosas abundantes, himenóforo poroide, sistema hifal dimítico, e basidiósporos cilíndricos a elipsoides, hialinos, de parede fina e lisa (sem ornamentação). *Fuscoporia gilva* ataca madeira morta e causa podridão branca, pode ser patógeno facultativo apresentando distribuição pantropical. O táxon reúne pelo menos 141 sinônimos, destes oito são homotípicos, mas a grande maioria (133) são heterotípicos. Revisões taxonômicas de *F. gilva*, a partir de estudos morfológicos, já foram realizadas. No entanto, a hipótese de que este táxon represente um complexo de espécies ainda não foi testada. Ainda, na literatura, dentre os sinônimos, *F. gilva* apresenta três variedades, *F. gilva* var. *gilva*, *F. gilva* var. *licnoide* e *F. gilva* var. *scruposa*, cujos conceitos morfológicos também ainda não foram testados filogeneticamente. Este trabalho apresenta análises macro e micromorfológicas detalhadas, assim como filogenéticas baseadas em sequências de DNA de materiais previamente identificados dentro das variedades de *F. gilva*. Ao todo, foram revisados 31 espécimes e obtidas 48 sequências de DNA das regiões ITS e LSU, sendo 41 de amostras previamente determinadas como *F. gilva* e sete de uma espécie relacionada, *Fuscoporia wahlbergii*. Os resultados das análises filogenéticas revelam que as amostras estudadas aqui, previamente identificadas como *F. gilva*, constituem quatro clados independentes não necessariamente relacionados entre si e sem correspondência com as variedades morfológicas previamente sugeridas. Este resultado refuta a hipótese inicial do trabalho de que as variedades poderiam representar espécies independentes dentro do complexo *Fuscoporia gilva*. Porém, corroboram que *F. gilva*, de fato, trata-se de um complexo de espécies, algumas delas crípticas do ponto de vista morfológico. Dentre as quatro espécies filogenéticas detectadas no complexo, com ocorrência no Brasil, *F. gilva* sensu Wagner & Fischer, *F. aff. gilva* sp. 1 e *F. aff. gilva* sp. 2 não apresentam morfologia distintiva, sendo até o momento discernidas por análises de biologia molecular das

espécies. Descrições detalhadas dos espécimes estudados e ilustrações são apresentadas. Do ponto de vista de reconhecimento de espécies, este trabalho demonstra que *F. gilva*, por ser um táxon de distribuição pantropical, apresentando centenas de sinônimos heterotípicos, potencialmente pode apresentar muitas outras espécies ainda por serem reveladas. Além disso, fica claro que reavaliações de outros grupos morfológicos e de complexos de espécies tradicionalmente tratados em *Fuscoporia* são necessárias para uma classificação biológica menos artificial.

Palavras-chave: *Hymenochaetaceae*, *Fuscoporia gilva*, taxonomia, filogenia.

Abstract

Fuscoporia gilva is a taxon with a wide morphological variation characterized mainly by the presence of bissazonal, rarely perennial basidiomas, with tomentose or with a finely velutinated upper surface, abundant hymenial setae, poroid hymenophore, dimitic hyphal system, and cylindrical basidiósporos to ellipsoids, hyaline, with thin and smooth wall (without ornamentation). *Fuscoporia gilva* attacks dead wood and causes white rot, may be an optional pathogen presenting pantropical distribution. The taxon gathers at least 141 synonyms, of which eight are homotypic, but the vast majority (133) are heterotypic. Taxonomic revisions of *F. gilva*, from morphological studies, have already been performed. However, the hypothesis that this taxon represents a species complex has not yet been tested. Still, in the literature, among the synonyms, *F. gilva* presents three varieties, *F. gilva* var. *gilva*, *F. gilva* var. *licnoide* and *F. gilva* var. *scruposa*, whose morphological concepts have not yet been phylogenetically tested. This work presents detailed macro- and micromorphological analyzes as well as phylogenetic analyzes based on DNA sequences of previously identified materials within *F. gilva* varieties. In all, 31 specimens were reviewed and 48 DNA sequences from the ITS and LSU regions were obtained, 41 of which were previously determined as *F. gilva* and seven of a related species, *Fuscoporia wahlbergii*. The results of the phylogenetic analyzes reveal that the samples studied here, previously identified as *F. gilva*, constitute four independent clones not necessarily related to each other and without correspondence with the previously suggested morphological varieties. This result refutes the initial hypothesis of the work that the varieties could represent independent species within the *Fuscoporia gilva* complex. However, they corroborate that *F. gilva*, in fact, is a complex of species, some of them cryptic from the morphological point of view. Among the four phylogenetic species detected in the complex, occurring in Brazil, *F. gilva* sensu Wagner & Fischer, *F. aff. gilva* sp. 1 and *F. aff. gilva* sp. 2 do not present distinctive morphology, being so far discerned by analyzes of molecular biology of the species. Detailed descriptions of the specimens studied and illustrations are

presented. From the point of view of species recognition, this work demonstrates that *F. gilva*, being a pantropical distribution taxon, presenting hundreds of heterotypic synonyms, can potentially present many other species yet to be revealed. In addition, it is clear that reassessments of other morphological groups and complexes of species traditionally treated in *Fuscoporia* are necessary for a less artificial biological classification.

Key words: *Hymenochaetaceae*, *Fuscoporia gilva*, taxonomy, phylogeny

LISTA DE FIGURAS

- Fig 1:Reconstrução filogenética da família Hymenochaetaceae, inferida a partir dos marcadores ITS e LSU com a topologia baseada na análise de Máxima Verossimilhança. Os números nos ramos representam os valores de valores de MV. Grupo externo: *Trichaptum sector*. 14
- Fig 2: Reconstrução filogenética do gênero *Fuscoporia*, inferida a partir dos marcadores ITS e LSU com a topologia baseada na análise de MV e IB. Os números nos ramos representam os valores de IB / valores de MV. Grupo externo: *Coniferiporia qilianensis*. 16
- Fig 3: Análise Barcode gap das espécies filogenéticas dos complexos *Fuscoporia gilva* e *Fuscoporia callimorpha* baseada nas distâncias intraespecíficas e interespecíficas da região ITS. 18
- Fig 4: Reconstrução filogenética do gênero *Fuscoporia*, inferida a partir do marcador ITS com a topologia baseada na análise de MV. PTP (coluna da esquerda) e ABGD (colunas da direita). Grupo externo: *Coniferiporia qilianensi*. 19
- Fig 5: Basidiomas *Fuscoporia gilva* senso Wagner & Fischer (2002). A: Basidiomas em campo (CM66). B: Superfície superior do píleo (CM66). C: Himenóforo (CM05). D: Seção transversal do contexto e dos tubos (CM05). 21
- Fig 6: Estruturas microscópicas de *Fuscoporia gilva* senso Wagner & Fischer (2002). A: Basidiósporos em corante floxina. A': Basidiósporos em reagente de Melzer. A'':

Basidiósporos em água. B: Hifa esquelética em NaOH. C: Hifas generativas em NaOH. D: Terminações hifais com cristais incrustados em reagente de Melzer. E: Seta himenial e cistidiolos em reagente de Melzer. E' Seta himenial e cistidiolos em corante floxina.21

Fig 7: Fotografias dos basidiomas de *Fuscoporia aff. gilva* sp1
A: Superfície superior do píleo(SGE324). B: Himenóforo (GAS261). C: Seção transversal do contexto e dos tubos (GAS261)23

Fig 8: Estruturas microscópicas de *Fuscoporia aff. gilva* sp1. A e A': Basidiósporos em corante floxina. B e B':terminações hifais com cristais incrustados em reagente de Melzer. C: Hifa esquelética. D: Hifas generativas. E:Seta himenial em reagente de Melzer. E' Seta himenial em NaOH e vermelho congo. E'': Seta himenial e cistidiolos em azul de algodão.24

Fig 9: Fotografias dos basidiomas de *Fuscoporia aff gilva* sp2.
A: Superfície superior do píleo (GAS170) e A': Superfície superior do píleo (SGE322) B: Seção transversal do contexto e dos tubos (GAS170). C: Himenóforo (GAS170).....26

Fig 10: Estruturas microscópicas de *Fuscoporia aff gilva* sp2.
A: Basidiósporos em azul de algodão e A': Basidiósporos em corante floxina. B: Terminações hifais com cristais incrustados em reagente Melzer. C: Seta himenial em reagente Melzer. D: Seta himenial e cistidiolos em azul de algodão. E: Hifa esquelética em NaOH. F: Hifas generativas em NaOH.26

Fig 11: Fotografias dos basidiomas de *Fuscoporia callimorpha* senso Vlasák *et al.* (2011). A: Basidiomas em campo (CM59). B: Superfície superior do píleo (CM24). C: Seção transversal do contexto e dos tubos (CM23). D: Himenóforo (CM59).28

Fig 12: Estruturas microscópicas de *Fuscoporia callimorpha* senso Vlasák et al. (2011). A e A': Basidiósporos em corante floxina. B: Seta himenial e cistidiolos em corante floxina. B': Seta himenial e cistidiolos em azul de algodão. C: Seta himenial em corante floxina. C': Seta himenial em reagente de Melzer. D: Terminações hifais com cristais incrustados em reagente de Melzer. E: Hifas generativas em NaOH. F: Hifa esquelética em NaOH..... 29

Fig 13: Distribuição biogeográfica no território brasileiro dos espécimes do gênero *Fuscoporia*, coletados para o presente trabalho. 31

Lista de Quadros e Tabelas

Tabela 1: Comparações morfológicas entre as três variedades de *Fuscoporia gilva* (Schwein.) T. Wagner & M. Fisch. (Wright et al 1988;).3

Tabela 2: Lista dos espécimes com sequências de DNA (regiões ITS e LSU) geradas (X) neste trabalho a partir de amostras previamente determinadas como *F. gilva* e de espécies relacionadas.....8

Tabela 3: Lista de espécies, *vouchers* e números de acesso do GenBank das sequências de ITS e LSU usadas nas análises filogenéticas.((*) A providenciar).....9

Quadro 1: : Comparação entre espécies do gênero *Fuscoporia* (*Hymenochaetaceae*)32

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
2. OBJETIVOS	4
2.1 OBJETIVO GERAL.....	4
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	4
3. MATERIAL E MÉTODOS	4
3.1 COLEÇÕES	4
3.2 ANÁLISES MORFOLÓGICAS	4
3.3 BIOLOGIA MOLECULAR	5
3.4 ANÁLISES FILOGENÉTICAS BASEADAS EM DNA.....	6
3.4 DELIMITAÇÃO DE ESPÉCIES BASEADAS EM FERRAMENTAS DE BIOINFORMÁTICA.....	7
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	7
4.1 ANÁLISES FILOGENÉTICAS BASEADAS EM DNA.....	9
4.2 DELIMITAÇÃO DE ESPÉCIES ATRAVÉS DE FERRAMENTAS DE BIOINFORMÁTICA.....	17
4.3 DESCRIÇÃO MORFOLÓGICA DAS ESPÉCIES, NOTAS TAXONÔMICAS E DE DISTRIBUIÇÃO.....	20
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	33

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 34

8. ANEXOS 37

1. INTRODUÇÃO

Dentre os Agaricomycetes (Basidiomycota) estão os fungos poliporóides lignolíticos, que utilizam a madeira como substrato. Os fungos poliporóides têm como peculiaridade o himenóforo tubular que, quando visto frontalmente, apresenta-se em forma de poros (Alexopoulos *et al.*, 1996). Essa característica apareceu diversas vezes na evolução de diferentes grupos, sendo um exemplo de convergência morfológica para o aumento da superfície himenial, onde são formados basídios e basidiósporos (Hibbet & Binder, 2002). Portanto, os fungos poliporóides não são um agrupamento natural e estão distribuídos principalmente nas ordens *Polyporales* Gáum e *Hymenochaetales* Oberw. Dentre essas ordens, os representantes tradicionalmente classificados em *Hymenochaetales* Donk são caracterizados principalmente pelo escurecimento permanente das hifas em contato com hidróxido de potássio (KOH) (reação xantocróica permanente), presença de estilipirenos (que lhes conferem coloração natural marrom ferruginoso), septo simples (ausência de fíbulas), presença ou ausência de setas e por causar podridão branca na madeira, degradando a lignina, celulose e hemicelulose (Wagner & Fischer 2002; Huhndorf *et al.*, 2004).

O conceito dominante para delimitação de espécies fúngicas é o Conceito Morfológico de Espécies (CME) ou hipótese morfológica, e o método dominante para reconhecer espécies é o Reconhecimento Morfológico de Espécies (RME). Com poucas exceções a maioria dos fungos descritos é diagnosticada por caracteres morfológicos (Hawksworth *et al.*, 1996). A grande vantagem do RME é que este tem sido aplicado amplamente e de modo prático, quando é possível, permite que as comparações possam ser feitas entre os táxons existentes, bem como na detecção de novos. No entanto, um dos problemas do RME é que táxons de vários grupos de fungos, diagnosticados por este meio, vêm sendo demonstrados como abrangentes e complexos. Há casos clássicos e muito recentes na literatura de Hymenochaetales (Kotlaba & Pouzar 1978; Fischer, 1996; Van Driel *et al.*, 2009; Brazee & Lindner, 2013; Tian *et al.*, 2013; Vlasak *et al.*, 2013 Campos-Santana *et al.*, 2016; Zhou *et al.*, 2016; Zhou *et al.*, 2016;) de que os conceitos morfológicos de muitos táxons podem abranger mais de uma espécie quando aplicados o Reconhecimento Biológico de Espécie (RBE) ou Reconhecimento Filogenético de Espécies (RFE).

Em Hymenochaetales, o gênero *Fuscoporia* foi descrito por Murrill (1907), tendo como espécie tipo *Boletus ferruginosus* Schrad. Compreende espécies lignolíticas de gimnospermas e angiospermas, com basidiomas ressupinados a pileados, caracterizados por apresentar sistema hifal monomítico a dimítico, hifas generativas com incrustações de cristais no dissepimento, setas himeniais, e esporos cilíndricos a elipsóides, hialinos e com paredes finas e lisas, inamilóides e indextrinóides (Murrill, 1907; Fiasson & Niemelä, 1984; Dai, 1999; Dai, 2010; Niemelä *et al.*, 2001; Wagner & Fischer, 2001). Aproximadamente 59 espécies são aceitas em *Fuscoporia* (Mycobank, 2018) e 14 têm sido reportadas como ocorrentes no Brasil, principalmente no Bioma Mata Atlântica (Baltazar *et al.* 2009, Pires *et al.* 2015): *F. atlantica* Motato-Vásquez, Pires & Gugliotta, *F. bifurcata* Baltazar, Trierv.-Per., Log.-Leite & Ryvarde, *F. callimorpha* (Lev.) Groposo, Log.-Leite & Góes-Neto, *F. contigua* (Pers.) G. Cunn., *F. chrysea* (Lev.) Baltazar & Gibertoni, *F. ferrea* (Pers.) G. Cunn., *F. ferruginosa* (Schrad.) Murrill, *F. flavomarginata* (Murrill) Groposo, Log.-Leite & Góes-Neto, *F. gilva* (Schwein.) T. Wagner & M. Fisch., *F. palmicola* (Berk. & M.A. Curtis) Bondartseva & S. Herrera, *F. punctatiformis* (Murrill) Zmitr., Malysheva & Spirin, *F. rhabarbarina* (Berk.) Groposo, Log.-Leite & Góes-Neto, *F. senex* (Nees & Mont.) Ghob.-Nejh., e *F. wahlbergii* (Fr.) T. Wagner & M. Fisch.

O táxon *Fuscoporia gilva*, objeto de estudo do presente trabalho, foi descrito a partir de material coletado no estado da Carolina do Norte, Estados Unidos da América. Atualmente, *F. gilva* apresenta 141 sinônimos, destes oito são homotípicos, cujo basônimo

é *Boletus gilvus* Schwein, mas a grande maioria (133) são heterotípicos, segundo a base de dados Index Fungorum. Um destes sinônimos, o homotípico *Phellinus gilvus* (Schwein.) Pat., é amplamente citado na literatura (Larsen *et al.*, 1990; Ryvardeen, 2004; Cunningham, 1965; Corner, 1991; Daí, 1999), pois por muito tempo o gênero *Fuscoporia* foi considerado sinônimo de *Phellinus* Quéél. Complexos taxonômicos são comuns em *Hymenochaetaceae*, cujas espécies, muitas vezes indistintas pela morfologia, somente podem ser reconhecidas a partir do entendimento de suas histórias evolutivas e distribuição geográfica (Fischer, 1996; Fischer & Binder, 2004; Amalfi *et al.*, 2010; Vlasák & Kout, 2011; Amalfi *et al.*, 2012; Campos Santana *et al.*, 2014).

De acordo com Ryvardeen (2004), (como *P. gilvus*), *F. gilva* está entre os táxons mais variáveis em morfologia e que frequentemente é coletado nos trópicos. Segundo Larsen *et al.* (1990) o táxon é causador de podridão branca na madeira, podendo ser encontrado em hospedeiros vivos ou substratos mortos de muitos gêneros de angiospermas. Sendo comum em *Quercus* L., troncos e galhos em pé ou caídos de *Aristotelia* Comm. ex Lam., *Corynocarpus* J. R. Forst. & G. Forst., *Eucalyptus* L'Hér., *Gymnelaea* Spach., *Nothofagus* Blume, *Podocarpus* L'Hér. ex Pers., *Weinmannia* L. e em árvores vivas de *Cornus macrophylla* Wall. Segundo a plataforma de dados Flora do Brasil (2016), já foram registradas coletas em *Byrsonima* Rich. ex Kunth, *Inga* Mill., *Tapirira guianensis* Aubl. e *Terminalia* L.

Apresenta ampla distribuição geográfica, com espécimes reportados para Ásia, Eurásia, sul da Europa, África, Oceania e América, sendo citada por Cunningham (1965) e Raymundo *et al.* (2013) como uma espécie pantropical. A espécie também é citada como amplamente distribuída na região Tropical (Ryvardeen & Johansen, 1980; Ryvardeen, 2004). No Brasil, sua ocorrência já foi registrada nos domínios da Amazônia, Caatinga, Cerrado, Mata Atlântica e Pantanal, em todas as regiões do Brasil (Gibertoni *et al.*, 2015; Maia *et al.*, 2015).

Atualmente, o táxon *F. gilva* é caracterizado por uma morfologia ampla, podendo apresentar basidiomas sazonais, raramente perenes, com píleo tomentoso ou com a superfície superior finamente velutinada, setas himeniais ventricosas abundantes e pequenos esporos elipsóides (Groposo *et al.*, 2007, Ryvardeen, 2004). Ainda, na literatura, dentre os sinônimos, *F. gilva* apresenta três variedades (Tabela 1), *F. gilva* var. *gilva* (Schwein.) T. Wagner & M. Fisch., *F. gilva* var. *licnoide* (Mont.) Lloyd in Corner e *F. gilva* var. *scruposa* (Fr.) Corner. *Fuscoporia gilva* var. *licnoide* diferencia-se de *F. gilva* var. *gilva* por apresentar basidiomas mais finos, efusos à pileados, com superfície do píleo concentricamente zonada, esporos (2.5-5 × 1.5-3 µm versus 2.5-4 × 1.5-2.5 µm) e setas (15-32 × 4-7 µm versus 10-27 × 4.5-6 µm) ligeiramente maiores; tubos menos espessos e de menor profundidade. *Fuscoporia gilva* var. *scruposa* difere de *F. gilva* var. *gilva* e de *F. gilva* var. *licnoide* principalmente por possuir basidiomas com superfície do píleo radialmente rugosa (Wright *et al.*, 1988; Campos-Santana *et al.*, 2015).

Tabela 1: Comparações morfológicas entre as três variedades de *Fuscoporia gilva* (Schwein.) T. Wagner & M. Fisch. (Wright et al 1988;).

	<i>F. gilva</i> var. <i>gilva</i>	<i>F. gilva</i> var. <i>licnoide</i>	<i>F. gilva</i> var. <i>scruposa</i>
Basidiósporos	2.5-4 x 1.5-2.5 µm	2.5-5 x 1.5-3 µm	2.5-4.5 x 1.5-2.5 µm
Setas	10-27 x 4.5-6 µm	15-32 x 4-7 µm	11-27 x 2-3 µm
Poros por mm	8-10	6-8	7-8
Contexto	10-25 mm	1-8 mm	2-7,5 mm
Superfície do píleo	Glabra, levemente velutinea quando jovem	Glabra, concêntricamente zonada	Radialmente rugosa

Fuscoporia gilva é um táxon que merece ser estudado a partir de uma revisão morfológica crítica e análises filogenéticas baseadas em comparações de DNA's de vários exemplares de distintas áreas da região tropical, a fim de testar a hipótese morfológica de que se trata de um complexo de espécies, algumas das quais podem ser crípticas (Campos-Santana *et al.* 2015, Drechsler-Santos *et al.* 2015). Além das sinonímias há outras espécies morfo e/ou filogeneticamente próximas como: *F. atlantica*, *F. bifurcata*, *F. callimorpha*, *F. contigua*, *F. ferrea*, *F. ferruginosa*, *F. flavomarginata*, *F. rhabarbarina*, *F. senex*, *F. torulosa* e *F. wahlbergii* que ocorrem no Brasil e merecem ser consideradas para a filogenia do grupo (Wagner & Fischer, 2002; Jeong *et al.*, 2005; Dai, 2010; Insumran *et al.*, 2012; Brazee, 2015; Pires *et al.*, 2015). Ryvarden & Johansen (1980, como *P. gilvus*) citam que *F. callimorpha* pode ser facilmente separada de *F. gilva* por apresentar basidiósporos mais estreitos. Entretanto, Groposo *et al.* (2007) contrapõem citando que ambas as espécies apresentam basidiósporos elipsóides, com sobreposição de medidas (*F. callimorpha* possui basidiósporos de (3.2) 3.6-3.9 (4.3) x 2.2 µm, enquanto *F. gilva* 2.9-4.9 x 2.0-3.6 µm). Adicionalmente, o material examinado pelos autores apresentou diferenças nas setas himeniais, as quais se apresentaram subuladas em *F. callimorpha* e ventricosas em *F. gilva*, assim como a ausência de tomento em *F. callimorpha*. Estes citam também a espécie *F. flavomarginata* que, de acordo com a descrição, é muito similar a *F. gilva*, diferenciando-se somente pela presença de distintas camadas de tubos e ausência de tomento. Ainda, no mesmo artigo, os autores apresentam *F. rhabarbarina*, que é caracterizada por contexto amarelo, superfície do píleo glabra nas zonas sulcadas e uma distinta crosta negra. Esta difere das espécies próximas *F. callimorpha*, *F. gilva* e *F. flavomarginata*, por apresentar setas himeniais ventricosas, ausência de tomento e ausência de distintas camadas de tubos. Os autores concluem que *F. gilva* é uma espécie comum no sul do Brasil, que exibe uma grande variação morfológica e que precisa ser cuidadosamente examinada, caracterizando a espécie por uma superfície do píleo com pouco tomento ou finamente aveludada, setas himeniais ventricosas abundantes e pequenos basidiósporos elipsóides.

Ainda, no território brasileiro há ecossistemas pouco explorados, cujas espécies de *Fuscoporia*, incluindo espécimes morfológicamente relacionados à *F. gilva*, merecem ser estudados e poderão contribuir para o entendimento da diversidade desse grupo de fungos

de *Hymenochaetaceae*. Por fim, para o grupo, somente análises morfológicas podem não ser suficientes para encontrar espécies filogenéticas ou linhagens biogeográficas crípticas (Taylor *et al.* 2000). Com base no exposto, o presente trabalho analisou espécimes de *Fuscoporia*, principalmente com morfologia relacionada à *F. gilva*, a partir de uma interpretação sistemática integrativa (utilizando as bases de dados de morfologia, biologia molecular e ecologia), testando as variedades morfológicas como hipótese de que correspondam a espécies dentro deste complexo.

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Estudar espécimes morfológicamente determinados e/ou relacionados à *Fuscoporia gilva*, de ocorrência em diferentes ecossistemas do território brasileiro, e avaliar se estes correspondem à uma única espécie filogenética.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Revisar macro e micromorfológicamente espécimes previamente determinados como *Fuscoporia gilva* coletados em diferentes ecossistemas brasileiros e identifica-los de acordo com a caracterização das variedades, *F. gilva* var. *gilva*, *F. gilva* var. *licnoide* e *F. gilva* var. *scruposa*;
- Obter sequências de DNA das regiões ITS (internal transcribed spacer) e nuLSU (nuclear large subunit) dos espécimes coletados, previamente identificados como as variedades citadas;
- Interpretar filogeneticamente, a partir das análises do DNA, o táxon e as possíveis linhagens correspondentes a espécies, bem como caracterizá-las através de morfologia detalhada, concordando ou não com as variedades.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 COLEÇÕES

Foram realizadas para o presente trabalho coletas nos estados de Santa Catarina, Paraná e Bahia. Recebemos também, materiais coletados por pesquisadores externos ao trabalho advindo dos estados do Mato Grosso e Rio de Janeiro. Espécimes previamente identificados como *Fuscoporia gilva* e espécies relacionadas foram fotografados e coletados. Os basidiomas foram levados para o laboratório de Micologia/UFSC e em seguida foram mantidos por 12 a 24h em estufa para desidratação (30°C a 35°C). Foram armazenados fragmentos dos basidiomas envoltos em papel manteiga e acondicionados em sacos hermeticamente fechados (tipo ziplock) com sílica, a fim de preservar o DNA para estudos moleculares. Após a identificação e as devidas análises, os materiais foram depositados no herbário FLOR (UFSC). Os espécimes estudados estão listados na Tabela 2. Os acrônimos dos herbários seguem a base de dados Index Herbariorum (Thiers, atualizado continuamente).

3.2 ANÁLISES MORFOLÓGICAS

Para as descrições macroscópicas, foram observadas e anotadas informações sobre o hábito (sésil/ressupinado/efuso-reflexo), sazonalidade, dimensões do basidioma (contexto/tubos/poros), bem como caracteres do himenóforo (poros: tipo/formato e nº por milímetro linear e tamanho do dissepimento), do contexto, dos tubos e da superfície superior do píleo dos basidiomas. Para a determinação das cores foi utilizado o catálogo de Munsell (1975). Também foram levadas em consideração informações sobre o substrato (hospedeiro: possível identificação e condição vivo ou morto e seu estágio de decomposição).

Dentre os caracteres microscópicos foram observados os tipos de hifas (sistema hifal), presença ou ausência de elementos estéreis, basídios e basidiósporos (tamanho, formato, espessura da parede, presença ou não de reações). Ainda, nas análises de microscopia, foram realizados cortes dos basidiomas (contexto e tubos) a mão livre, sob microscópio estereoscópico. Os cortes foram montados em lâminas e lamínulas seguindo Teixeira (1995): água destilada (para hidratar e observar a coloração natural das hifas e basidiósporos), KOH 2-3% (hidratante e reagente para observação de reação xantocroica das hifas e basidiósporos), Floxina 1% (corante para observar as características das hifas generativas, himênio e basidiósporos), reagente de Melzer (para observar a presença ou ausência das reações dextrinóide e amilóide nas hifas e basidiósporos) e Azul de algodão (para observar a presença ou ausência da reação de cianofilia nos basidiósporos) foram utilizados de modo combinado ou individualmente. Além de tratar os cortes do contexto e himenóforo em solução de NaOH 3% overnight a 40°C, para posterior dissecação sob microscópio estereoscópico em temperatura ambiente, e análise em microscópio óptico nos aumentos de 400x e 1000x para observação do sistema hifal do basidioma. A observação e mensuração (n=40) das estruturas foram realizadas em microscópio óptico com ocular micrométrica e os valores foram tabulados em planilha do Microsoft Excel para calcular média e desvio padrão na variação dos valores ($\Delta s = 5\%$), bem como a razão entre o comprimento e a largura dos basidiósporos (R).

3.3 BIOLOGIA MOLECULAR

A extração do DNA total dos materiais coletados foi realizada de acordo com a metodologia proposta por Doyle & Doyle (1987), modificada por Góes-Neto *et al.* (2005), utilizando o tampão CTAB (*Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide*) 2% pré-aquecido. Os fragmentos dos basidiomas foram macerados com o auxílio de nitrogênio líquido, em gral de porcelana com auxílio de um pistilo. Os produtos do processo de maceração foram colocados em tubos de 2,0 mL, sendo posteriormente adicionados 850 μ L do tampão (Rogers & Bendich, 1985) e mantido em banho-maria a 65°C durante um período de 40 a 60 minutos. Após essa incubação, o extrato foi lavado com clorofórmio: álcool isoamílico (24:1), precipitado em isopropanol (1:1), lavado com 1 mL de etanol 70% e ressuspendido em 50 μ L de água *Milli-Q* ultra pura.

Os produtos de extração foram diluídos nas proporções de 1:10; 1:50 e 1:100, sendo uma parte de DNA bruto e o restante completado com Água *Milli-Q* (água deionizada purificada em sistema *Milli-Q* (*Millipore Corporation*)).

Para amplificação (Anexos I e III) das regiões nuLSU e ITS do DNA nuclear, utilizaram-se os pares de *primers* específicos para ITS (ITS8F, ITS6R) e LSU (LR0R e LR7F) (Amalfi *et al.*, 2010; Amalfi *et al.*, 2012; Decock *et al.*, 2007; Detinger *et al.*, 2010). Foram escolhidas estas regiões do DNA, pois estes marcadores genéticos são os mais utilizados para este grupo de fungos, sendo assim podemos comparar nossos materiais com outros existentes nos bancos de dados.

Os produtos de amplificação foram purificados com Polietilenoglicol - PEG (Anexo II) de acordo com o protocolo de Sambrook *et al.* (1989) para eliminação de possíveis impurezas resultantes do processo de reação em cadeia da polimerase (PCR) e, posteriormente, analisados em gel de agarose. Os produtos da extração (CTAB), amplificação (PCR) e purificação (PEG) foram analisados em gel de agarose preparado nas proporções de 36 ml de tampão TBE (Tris/Borato/EDTA) e 0,288g de agarose ultra pura (*UltraPure™ Agarose*). Em cada poço do gel adicionaram-se 2 μ L da amostra junto com 2 μ L do marcador de massa molecular de 1kb (DNA *ladder*) para estimar indiretamente a quantidade e concentração de DNA através de bandas únicas nas amostras, reveladas através de Transiluminador UV, utilizado para a visualização segura de bandas em géis de eletroforese corados com marcadores fluorescentes. Em seguida, o gel foi fotografado e analisado no programa de análise de imagem ImageJ (*Image Processing and Analysis in Java*) (Abramoff *et al.*, 2004), para estimar a concentração de nanogramas de DNA por microlitro. Somente amostras acima do limite mínimo de 20 ng/ μ L foram encaminhadas para sequenciamento.

Os produtos purificados da amplificação foram enviados para sequenciamento através do método Sanger em sequenciador automático utilizando 20 a 30 ng de DNA a cada 100 pb da amostra (ex: 60 a 90 ng para um produto de 300 pb) na Plataforma de Tecnologias (PDTIS) da Fiocruz de Belo Horizonte, no âmbito do projeto de BrBol - "Identificação molecular de fungos do Brasil". Na empresa *Myleus Biotechnology* as amostras foram sequenciadas por eletroforese capilar em aparelho ABI3730, utilizando-se polímero POP7 e *BigDye* v3.1. Os cromatogramas gerados foram analisados e editados manualmente no software Geneious versão 9.0.5 (Kearse *et al.*, 2012).

3.4 ANÁLISES FILOGENÉTICAS BASEADAS EM DNA

As análises filogenéticas foram realizadas a partir de matrizes montadas com seqüências das regiões rDNA ITS e nuLSU, tanto disponibilizadas no banco de dados GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Genbank/>), quanto daquelas provenientes da extração e amplificação dos materiais coletados durante a execução do projeto.

As seqüências obtidas foram alinhadas utilizando o programa MAFFT (Katoh; Standley, 2013). Os alinhamentos foram posteriormente editados manualmente, utilizando o programa MEGA 7. Regiões de alinhamento ambíguo do ITS1 e ITS2 foram removidas com o programa Gblock 0.91b conforme os parâmetros: *Minimum number of sequences for a conserved position: 53%; Minimum number of sequences for a flank positions: 55%, Maximum number of contiguous nonconserved positions: 8; Minimum length of a block: 2; allowed gap position: with half*, através da plataforma *Phylogeny.fr* (Dereeper *et al.*, 2008 e Dereeper *et al.*, 2010). Para a construção e análise das árvores filogenéticas foram utilizadas as análises de Inferência Bayesiana (IB) e Máxima Verossimilhança (MV) usando a plataforma online CIPRES.

Para a construção e análise das árvores filogenéticas foram utilizados os métodos de Máxima Verossimilhança com 1.000 pseudoreplicações (bootstrap) utilizando o programa RAXML v.8.1.11 (Stamatakis, 2014), disponível na plataforma CIPRES (Miller *et al.*, 2011). A análise primeiro envolveu 100 buscas de MV independentes, cada uma começando a partir de uma árvore de parcimônia, sob o modelo GTRGAMMA, com todos os parâmetros estimados pelo software. Foi fornecida uma matriz alinhada para forçar o software RAXML a procurar um modelo de evolução para cada conjunto de dados. A análise de inferência Bayesiana (IB) foi realizada no programa Mr. Bayes v. 3.2.6 (Ronquist *et al.*, 2012), e os modelos evolutivos para IB foram estimados usando o AIC (*Akaike Information Criterion*), conforme implementado no software jModelTest2 v.1.6 (Darriba *et al.*, 2012; Guindon; Gascuel, 2003). Ambos os programas foram utilizados via plataforma CIPRES (Miller *et al.*, 2011). Os modelos que melhor se ajustaram a cada partição foram utilizados nas análises dos dados combinados. A IB foi configurada para duas corridas independentes, cada uma a partir de uma árvore aleatória, com quatro cadeias simultâneas independentes e realizadas 20.000.000 de gerações Monte Carlo, armazenando uma árvore a cada milésima geração. 25% das árvores inicialmente amostradas foram descartadas conforme configuração *burn in*, verificada pelo critério de convergência (*frequencies of average standard deviation of split* <0.01) no programa Tracer v.1.6 (Rambaut *et al.*, 2014). As demais foram utilizadas para reconstruir uma árvore de consenso (50% *majority-rule*) e para estimar a probabilidade Bayesiana posterior (PBP) dos ramos. O grupo externo foi composto por duas seqüências de *Trichaptum sector* (Ehrenb.) Kreisel, escolhidas de acordo com as análises filogenéticas de Drechsler-Santos *et al.* (2016). Valores de Bootstrap (BS MV) entre 70 e 90 foram considerados como um suporte moderado e acima de 90 como altamente sustentado.

Após obtenção das topologias finais de IB e MV, suas congruências foram avaliadas visualmente, sendo considerados incongruentes apenas clados com configuração diferente que apresentassem suporte significativo e em todos os casos a topologia de MV foi escolhida e os valores de IB e MV foram anotados. A configuração gráfica da árvore foi realizada primeiro no programa *FigTree®* v1.4.0, quanto à rotação e disposição dos táxons na topologia. As árvores foram salvas em formato *PDF* e realizada a edição gráfica final no *InkScape®*.

3.4 DELIMITAÇÃO DE ESPÉCIES BASEADAS EM FERRAMENTAS DE BIOINFORMÁTICA

A análise de *Poisson Tree Processes PTP* (Zhang *et al.*, 2013) foi realizada a partir da análise final de Máxima Verossimilhança, através da plataforma *The Exelixis Lab*, com os parâmetros propostos por Zhang *et al.*, 2013. Na plataforma (<http://species.hits.org/ptp/>) a árvore de máxima verossimilhança foi anexada no item “*My phylogenetic input tree, if input file contains multiple trees, only the first tree will be used*”. Os parâmetros utilizados foram: *My tree is: unrooted; no. MCMC generations: 100000; thinning: 100; burn-in: 0,1; Seed: 123; Outgroup taxa names(if any): Coniferiporia qilianensis* (L.W. Zhou & Y.C. Dai) L.W. Zhou & Y.C. Dai. Esta análise resulta em agrupamentos de espécies moleculares a partir dos comprimentos dos ramos do filograma de máxima verossimilhança.

A análise de *Automatic Barcode Gap Discovery ABGD* (Achaz *et al.*, 2011) foi realizada a partir das sequências geradas neste trabalho, alinhadas utilizando o programa MAFFT (Katoh; Standley, 2013), e novamente alinhadas manualmente. A análise de ABGD foi gerada a partir da plataforma *abgd web* (<http://www.wabi.snv.jussieu.fr/public/abgd/abgdweb.html>), utilizando os parâmetros de Achaz *et al.* (2011). A matriz contendo as mesmas sequências utilizadas nas análises de máxima verossimilhança foram anexadas no item “*It can either be an already ALIGNED fasta file or a distance matrix*”. Os parâmetros utilizados foram: *Pmin: 0,01; Pmax: 0.1; Steps:10; X: 0.8; Nb bins: 20; If you enter a fasta file you can select your distance: Jukes-Cantor(JC69)*. O agrupamento das espécies foi escolhido a partir das análises filogenética e morfológica e da curva do eixo X. Esta análise resulta em agrupamentos de espécies filogenéticas a partir dos valores de distância genética entre eles.

A análise de *Barcode gap* foi realizada de acordo com Badotti *et al.* (2017), usando sequências geradas neste estudo. As sequências foram alinhadas utilizando o programa MAFFT (Katoh; Standley, 2013). As matrizes de distância foram geradas utilizando o *p-distância* (Russo *et al.*, 2012) com o programa *Geneious®*. A matriz alinhada de sequências do complexo foi ordenada de acordo com os agrupamentos morfológicos e a partir dos agrupamentos genéticos formados pela análise de ABGD (Achaz *et al.*, 2011). Essas matrizes foram importadas para o programa *Geneious®*, selecionadas e usada a função *Tree* com os parâmetros: *Genetic distance model: Jukes-cantor; Tree build method: Neighbor-Joining; outgroup: No outgroup*. O item *Distances* mostra a matriz *p* de distância que foi importada para o *Excel®*. Os valores intraespecíficos e interespecíficos foram selecionados e gráficos *Jitter plot* foram gerados usando *R* (*R Development Core Team*, 2016). Considerou-se que as espécies foram identificadas com sucesso quando a distância mínima interespecífica foi maior que a distância máxima intraespecífica (Hollingsworth *et al.*, 2009). Esta análise resultou em um gráfico de pontos onde há a separação dos táxons de acordo com o valor de suas distâncias inter e intraespecíficas.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram realizadas análises morfológicas de 49 materiais previamente identificados como *Fuscoporia gilva* e espécies relacionadas provenientes de coletas realizadas para este trabalho e de coletores externos. Destes, 31 espécimes, provenientes do Cerrado e Mata Atlântica (Floresta Ombrófila Densa e Floresta Ombrofila Mista), foram utilizados para as análises de DNA através do uso de ferramentas de biologia molecular. Foram obtidas ao todo 48 sequências de DNA, sendo 22 da região rDNA ITS (*Ribossomal DNA Internal Transcribed Spacer*) e 26 da região nuLSU (*nuclear Large Subunit*). Das 48 sequências, 41 foram de amostras previamente determinadas entre as variedades de *F. gilva* (10 da variedade *F. gilva* var *gilva*, 17 de *F. gilva* var. *licnoide* e 14 de *F. gilva* var *scruposa*) e sete da espécie relacionada *F. wahlbergii*. Para testar a hipótese morfológica das variedades neste trabalho foram utilizados apenas os espécimes para os quais foram

obtidas sequências de DNA. A lista completa com as informações das sequências obtidas e localidades dos espécimes selecionados, é apresentada na Tabela 2.

Tabela 2: Lista dos espécimes com sequências de DNA (regiões ITS e LSU) geradas (X) neste trabalho a partir de amostras previamente determinadas como *F. gilva* e de espécies relacionadas.

Espécie	Espécime	Localidade	ITS	LSU
<i>F. gilva</i> var. <i>gilva</i>	CM47	Bahia, Brasil	X	X
	CM66	Bahia, Brasil	X	X
	CM73	Bahia, Brasil	-	X
	DS00568	Santa Catarina, Brasil	X	-
	GAS929	Bahia, Brasil	X	-
	SGE322	Rio de Janeiro, Brasil	X	X
	SGE324	Rio de Janeiro, Brasil	X	
<i>F. gilva</i> var. <i>licnoide</i>	CM06	Santa Catarina, Brasil	X	X
	CM21	Santa Catarina, Brasil	X	X
	CM24	Santa Catarina, Brasil	X	X
	CM41	Bahia, Brasil	X	-
	CM46	Bahia, Brasil	-	X
	CM51	Bahia, Brasil	X	X
	GAS170	Mato Grosso, Brasil	X	-
	GAS233	Mato Grosso, Brasil	X	X
	GAS261	Mato Grosso, Brasil		X
	GAS283	Mato Grosso, Brasil	X	X
	GAS911	Bahia, Brasil		X
<i>F. gilva</i> var. <i>scruposa</i> .	CM04	Santa Catarina, Brasil	-	X
	CM05	Santa Catarina, Brasil	-	X
	CM18	Paraná, Brasil	X	X
	CM23	Santa Catarina, Brasil	X	X
	CM42	Bahia, Brasil	X	X
	CM55	Bahia, Brasil	X	X

	CM59	Bahia, Brasil	X	X
	CM72	Bahia, Brasil	X	X
<i>F. aff. wahlbergii</i>	CM13	Paraná, Brasil	-	X
	CM29	Santa Catarina, Brasil	X	X
	CM33	Bahia, Brasil	-	X
	CM40	Bahia, Brasil	X	X
	CM44	Bahia, Brasil	-	X

Nas análises filogenéticas foram incluídas sequências de espécies relacionadas a *F. gilva*, geradas a partir deste estudo. Algumas dessas amostras podem representar novidades científicas como *F. aff. wahlbergii* (CM13,CM29,CM33,CM40 e CM44), mas por não fazerem parte dos objetivos do estudo de *F. gilva*, não serão tratadas neste trabalho.

4.1 ANÁLISES FILOGENÉTICAS BASEADAS EM DNA

Para as análises filogenéticas foram extraídas amostras de DNA de 31 espécimes. A partir dessas amostras, foram obtidas 23 sequências da região ITS e 27 da região nrLSU, totalizando 50 sequências de amostras previamente determinadas entre as variedades de *F. gilva*, sendo 14 da variedade *F. gilva* var *gilva*, 17 de *F. gilva* var. *licnoide* e 12 de *F. gilva* var *scruposa* e sete da espécie relacionada *F. wahlbergii*. Com base nas sequências ITS e LSU foram realizadas duas análises concatenadas (ITS+LSU), uma no contexto da família *Hymenochaetaceae*, com 23 gêneros, incluindo *Fuscoporia* e o grupo externo *Trichaptum sector* (Ehrenb.) Kriese (Fig. 1), e outra no contexto do gênero *Fuscoporia*, incluindo 17 táxons e o grupo externo *Coniferiporia qilianensis* (L.W. Zhou & Y.C. Dai) L.W. Zhou & Y.C. Dai (Fig. 2). Os táxons e sequências utilizadas nestas duas análises são apresentadas na Tabela 3.

Tabela 3: Lista de espécies, vouchers e números de acesso do GenBank das sequências de ITS e LSU usadas nas análises filogenéticas.((*) A providenciar)

Espécie	Espécime / voucher / strain / isolado	Localidade	GenBank	
			ITS	LSU
<i>Arambarria destruens</i>	CIEFAPcc347	Argentina	KP347538	KP347523
<i>Coniferiporia sulphurascens</i>	CFS543	Canada	AY829344	AY829348
<i>Coniferiporia weirii</i>	CFS504	Canada	AY829341	AY829345
<i>Cylindrosporus flavidus</i>	Dai13213	China	KP875564	KP875561
	Cui10479	China	KP875563	KP875560

<i>Fomitiporella sp.</i>	AM04	Ethiopia	KX181318	KX181335
<i>Fomitiporella umbrinella</i>	JV0509/114	USA	KX181314	KX181336
<i>Fomitiporia punctata</i>	MUCL53548	Estonia	JX093790	JX093834
<i>Fomitiporia robustus</i>	MUCL51327	Czech Republic	GU461949	GU461993
<i>Fulvifomes fastuosus</i>	CBS213.36	Philippines	AY558615	AY059057
<i>Fulvifomes robiniae</i>	CBS211.36	USA	AY558646	AY059038
<i>Fuscoporia atlantica</i>	MV230	Brazil	KP058515	KP058517
	RP8	Brazil	KP058514	KP058516
<i>Fuscoporia callimorpha</i>	JV040914J	USA	JF692193	-
<i>Fuscoporia contigua</i>	Dai16045	China	KX961105	KY189105
	JV 1204/22.3	China	KX961104	KY189104
<i>Fuscoporia ferrea</i>	Cui11801	China	KX961101	KY189101
	FP-133592	USA	KU139189	KU139259
<i>Fuscoporia ferruginosa</i>	JV0408/28	China	KX961103	KY189103
	KUC20121123-07	South Korea	KJ668545	KJ668398
<i>Fuscoporia gilva</i>	ATCC 26729	India	AF250932	AF458457
	Dai14246	China	KX961108	KY189109
	Dai15130	China	KX961109	KY189108
	MSU30	Thailand	JF461328	-
	RP 17	Brazil	KP859295	KP859305
	SP18	USA	AM269795	AM269858
	SP20	USA	AM269796	AM269859
	KUC20121123-27	South Korea	KJ668544	KJ668397
<i>Fuscoporia gilva var gilva</i>	CM47	Brazil	*	*
	CM66	Brazil	*	*
	GAS929	Brazil	*	*
	SGE324	Brazil	*	*

<i>Fuscoporia gilva</i> var <i>licnoide</i>	CM06	Brazil	*	*
	CM41	Brazil	*	*
	GAS233	Brazil	*	*
	GAS283	Brazil	*	*
<i>Fuscoporia gilva</i> var <i>scruposa</i>	CM18	Brazil	*	*
	CM23	Brazil	*	*
	CM42	Brazil	*	*
	CM51	Brazil	*	*
	CM55	Brazil	*	*
	CM59	Brazil	*	*
	CM72	Brazil	*	*
<i>Fuscoporia montana</i>	taxon175856	Taiwan	JX484015	JX484007
<i>Fuscoporia rhabarbarina</i>	Cui6464	-		JQ797671
<i>Fuscoporia rufitincta</i>	JV0904/142	USA	KJ940030	KX058574
	JV1008/25	USA	KJ940029	KX058575
<i>Fuscoporia senex</i>	KUC20110922-13	South Korea	JX463658	JX463652
<i>Fuscoporia subferrea</i>	Cui8173	China	KX961099	KY189111
	Dai16327	China	KX961098	KY053473
<i>Fuscoporia torulosa</i>	isolate759	Czech Republic	AM269803	AM269865
	JV1312/19-Kout	China	KX961107	KY189107
<i>Fuscoporia wahlbergii</i>	89-922	Canary Islands	-	AF311045
	CM40	Brazil	*	*
	CM29	Brazil	*	*
<i>Hydnochaete duportii</i>	AFTOL-ID 666	-	DQ404386	AY635770
<i>Hydnochaete japonica</i>	He245	China	JQ279590	JQ279680
<i>Hymenochaete cyclolamellata</i>	Cui8548	China	JQ279514	JQ279630

<i>Hymenochaete rubiginosa</i>	He1049	China	JQ716407	JQ279667
<i>Hymenochaete corrugata</i>	He761	China	JQ279606	JQ279621
<i>Hymenochaete rigidula</i>	He343	China	JQ279612	JQ279619
<i>Inocutis dryophilus</i>	SP25	USA	AM269782	AM269845
	L(61)5-20-A	USA	AM269783	AM269846
<i>Inocutis jamaicensis</i>	RLG15819	USA	KX674581	KY907703
<i>Inonotus griseus</i>	Dai13436	China	KX674583	KX832925
<i>Inonotus henanensis</i>	Dai13157	China	KX674581	KX832918
<i>Inonotus sp.</i>	CM45	Brazil	*	*
<i>Neomensularia duplicata</i>	Dai13578A	China	KU573970	KU573972
<i>Neomensularia kanehirae</i>	Dai 10418	China	KX078220	KX078223
<i>Nothophellinus andinopatagonicus</i>	CIEFAPcc42	Argentina	KP347534	KP347529
<i>Onnia tomentosa</i>	Bud-551-C-1	Canada	JX110072	JX110116
<i>Phellinidium ferrugineofuscum</i>	Cui 10042	China	KC782527	KR350559
<i>Phellinidium fragrans</i>	CBS 202.90	USA	AY558619	AY059027
<i>Phellinopsis andina</i>	CIEFAPcc297	Argentina	KP347542	KP347528
<i>Phellinopsis asetosa</i>	Dai 13553	China	KJ425524	KJ425523
<i>Phellinotus neoaridus</i>	DS105PE	Brazil	KM211294	KM211286
<i>Phellinus cinereus</i>	strain 85-917	Germany	AY340048	AF311027
<i>Phellinotus piptadeniae</i>	DS109PE	Brazil	KM211290	KM211282
	DS110PE	Brazil	KM211291	KM211283
<i>Phellinus tremulae</i>	isolate 243	Czech Republic	AM269804	AM906069
<i>Phylloporia elegans</i>	FLOR 51178	Brazil	KJ639049	KJ631408
<i>Phylloporia flabelliforma</i>	MUCL 55569	Gabon	KU198356	KU198349
<i>Porodaedalea cancriformans</i>	isolate 1-Sp	USA	JX110042	JX110086
<i>Porodaedalea chrysoloma</i>	FP-135952	Sweden	JX110033	JX110077
<i>Pseudoinonotus crustosus</i>	MR11111	Argentina	KP347540	KP347526
	MR11904	Argentina	KP347527	KP347541

<i>Sanguangporus pilatii</i>	BRNM 771989	Czech Republic	KT428764	KT428765
<i>Sanguangporus weirianus</i>	CBS 618.89	USA	AY558654	AF458465
<i>Trichaptum sector</i>	RP 63	Brazil	KP859296	KP859306
	RP 67	Brazil	KP859297	KP859307
<i>Tropicoporus linteus</i>	JV 0904 140	USA	KP030780	JQ860323
<i>Tropicoporus tropicalis</i>	IDR1300012986	USA	KF695121	KF695122

No contexto da família *Hymenochaetaceae* Donk, com o objetivo de confirmar o posicionamento dos espécimes coletados para este trabalho no gênero *Fuscoporia*, foi construído uma matriz de dados concatenada (Fig 1) com 94 espécimes representando 23 gêneros, totalizando 1174 caracteres sendo 249 caracteres do marcador ITS e 925 caracteres do marcador LSU.

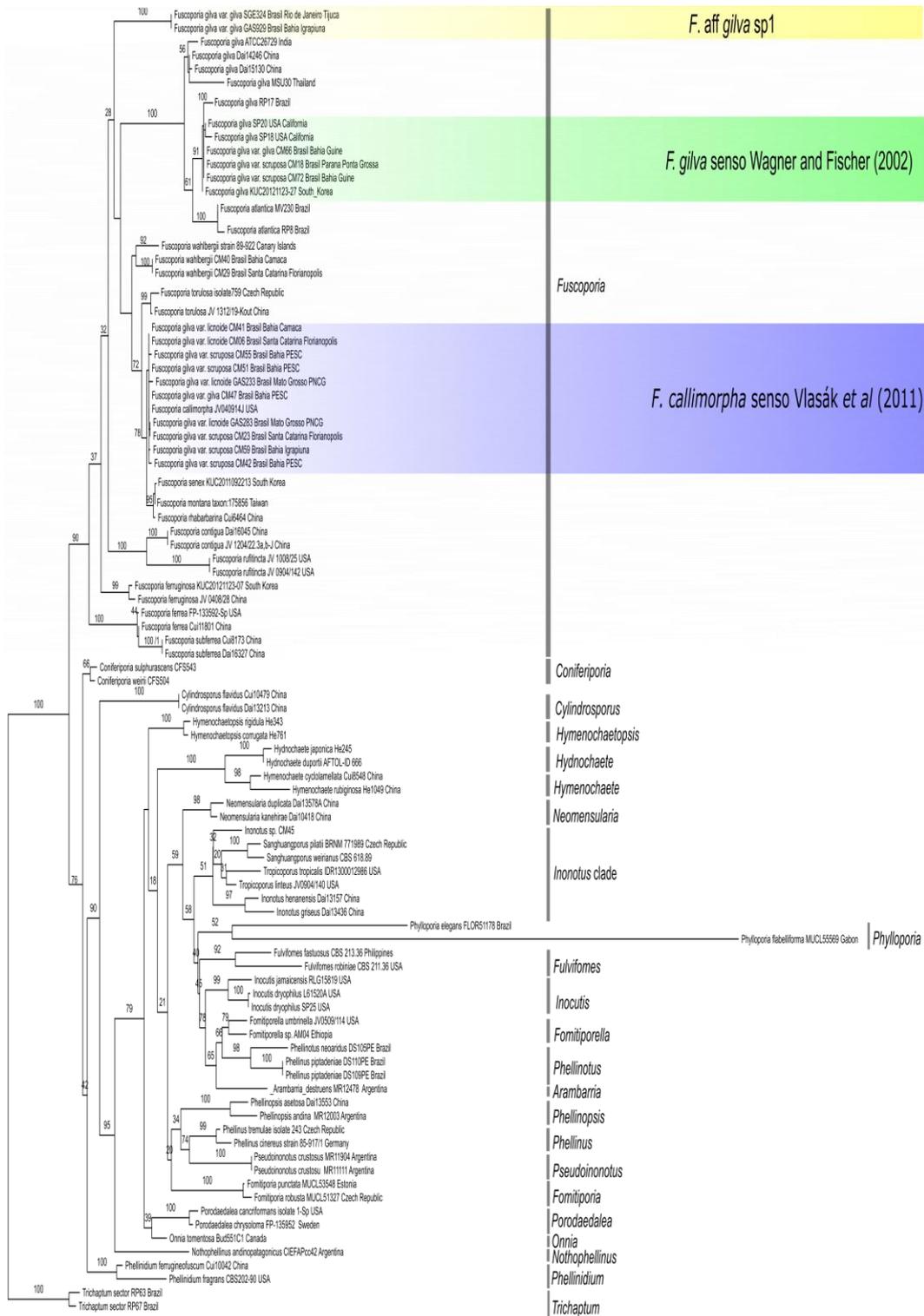


Fig 1:Reconstrução filogenética da família Hymenochaetaceae, inferida a partir dos marcadores ITS e LSU com a topologia baseada na análise de Máxima Verossimilhança. Os números nos ramos representam os valores de valores de MV. Grupo externo: *Trichaptum sector*.

Dentre o conjunto de análises efetuadas para esta matriz foram realizados testes de Máxima Verossimilhança e Inferência Bayesiana. Somente a topologia de MV é exibida, pois houve inconsistência entre as duas análises (Fig. 1). São representados nesta reconstrução filogenética 23 gêneros da família *Hymenochaetaceae* sendo eles, *Fuscoporia*, *Coniferiporia* L.W. Zhou & Y.C. Dai, *Cylindrosporus* L.W. Zhou, *Hymenochaetopsis* S.H. He & Jiao Yang, *Hydnochaete* Bres, *Hymenochaete* Lév., *Neomensularia* F. Wu, L.W. Zhou & Y.C. Dai e *Inonotus* P. Karst. clade (*Sanghuangporus* Sheng H. Wu, L.W. Zhou & Y.C. Dai; *Tropicoporus* L.W. Zhou, Y.C. Dai & Sheng H. Wu) e o grupo externo *Trichaptum sector*.

Esta matriz confirma o posicionamento do gênero *Fuscoporia* dentro da família *Hymenochaetaceae* com alto suporte estatístico (MV=90). Além disso, todas as variedades de *F. gilva* estão dentro deste gênero e rearranjadas nos clados, *F. gilva* *sensu* Wagner and Fischer (2002), *F. aff gilva* sp1 e *F. callimorpha* *sensu* Vlasák *et al* (2011), com alto suporte estatístico, 91, 100 e 78, respectivamente. A espécie *F. aff gilva* sp2 não aparece nesta filogenia devido ao fato de os espécimes representantes possuírem somente dados da região ITS.

No contexto do gênero *Fuscoporia*, com o objetivo de reconhecer o posicionamento filogenético dos espécimes previamente determinados como variedades de *F. gilva*, foi construída uma matriz de dados concatenada (Fig. 2) com 48 espécimes, representando 16 espécies do gênero, totalizando 1334 caracteres, sendo 476 caracteres para a região ITS e 858 caracteres para a região LSU.

Estão representados nesta reconstrução filogenética 16 espécies do gênero *Fuscoporia* sendo elas, *F. atlântica*, *F. callimorpha* *sensu* Vlasák *et al* (2011), *F. contigua*, *F. ferrea*, *F. ferruginosa*, *F. gilva* *sensu* Wagner & Fischer (2002), *F. aff gilva* sp1, *F. aff gilva* sp2, *F. aff. gilva* clado Oriental, *F. montana*, *F. rhabarbarina*, *F. rufitincta*, *F. senex*, *F. subferrea*, *F. torulosa*, *F. aff. wahlbergii* e como grupo externo *Coniferiporia qilianensis*.

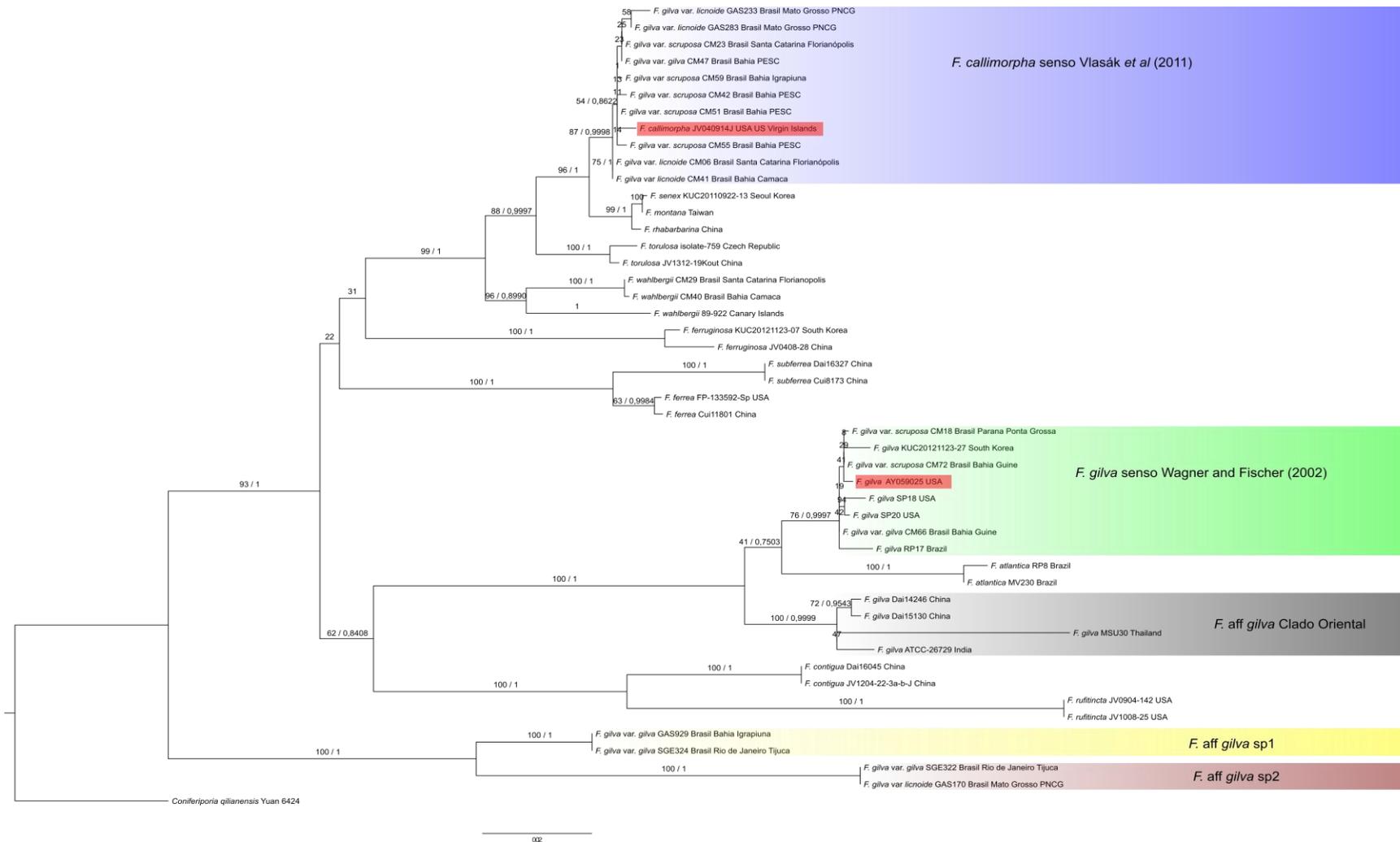


Fig 2: Reconstrução filogenética do gênero *Fuscoporia*, inferida a partir dos marcadores ITS e LSU com a topologia baseada na análise de MV e IB. Os números nos ramos representam os valores de IB / valores de MV. Grupo externo: *Coniferiporia qilianensis*.

Dentre o conjunto de análises efetuadas para esta matriz foram realizados testes de Máxima Verossimilhança e Inferência Bayesiana. Somente a topologia de MV é exibida, porém os valores de sustentações da IB são apontados nos ramos (Fig. 2).

Neste trabalho é possível observar que *F. gilva* em seu conceito morfológico atual, representa mais de uma linhagem, que, de acordo com as análises, corresponderiam a diferentes espécies filogenéticas. *Fuscoporia gilva* se mostrou polifilético, confirmando que se trata de um complexo de espécies. Neste filograma, há quatro clados distintos denominados como *F. gilva* *sensu* Wagner & Fischer (2002), *F. callimorpha* *sensu* Vlasák *et al* (2011), *F. aff. gilva* sp1 e *F. aff. gilva* sp2, correspondendo a quatro espécies filogenéticas, que não estão relacionadas filogeneticamente entre si e não são correspondentes às variedades. Sendo assim, fica aqui comprovado com esta filogenia, baseada em dados obtidos a partir de amostras de DNA, a não existência das variedades em *F. gilva*, conforme atribuído pelos dados morfológicos. A análise nos mostra o não agrupamento dos espécimes previamente determinados como as variedades morfológicas *F. gilva* var. *gilva*, *F. gilva* var. *licnoide* e *F. gilva* var. *scruposa* e, portanto, demonstra que as morfologias previamente determinantes das variedades não correspondem às espécies filogenéticas encontradas, ou seja, não estão relacionadas entre si, aparecendo em clados distintos.

As análises mostram ainda que os espécimes do complexo *F. gilva* ficaram dispostos em quatro clados não-relacionados, logo o táxon *F. gilva* deve ser interpretado como polifilético. O primeiro agrupamento filogenético a ser tratado é composto pelas linhagens filogenéticas dos clados *F. aff. gilva* sp1 (MV=100 / IB=1) e *F. aff. gilva* sp2 (MV=100 / IB=1). Este último apresenta somente o marcador ITS, por isso não está representado na análise concatenada da família *Hymenochaetaceae*. Estes dois grupos-irmãos (*F. aff. gilva* sp1 e *F. aff. gilva* sp2) são constituídos, respectivamente, por três (GAS 929, SGE 324 e DS0568) e dois espécimes (SGE322 e GAS170). Este último clado não possui relação com nenhuma outra espécie já existente nos bancos de dados.

O clado *F. gilva sensu* Wagner & Fischer (2002) (MV=76 / IB=0,9997) inclui três espécimes coletadas no presente trabalho (CM18, CM66, CM72), com ramos curtos, o que demonstra pouca variação genética entre si. Neste clado encontram-se espécimes determinados por Wagner & Fishcher (2002) como *F. gilva*, coletados no país de origem do material tipo. Portanto, este clado foi tratado neste trabalho como o grupo de *F. gilva sensu* Wagner & Fischer por apresentar a sequência de referência para o táxon. Ainda, há outras sete sequências (GenBank acesso: KU139195; KU139196; KX065958; KJ140647; KJ140621; AM269796; AM269795) que ficaram posicionadas no mesmo clado, que são oriundas do mesmo país do espécime tipo, bem como outra sequência (GenBank acesso: KP859295) oriunda da Mata Atlântica do Brasil, determinada por Pires *et al* (2015) como *F. gilva*. Já o clado *F. callimorpha sensu* Vlasák *et al.*, (2011) (MV=87 / IB= 0,9998), que possui onze espécimes (CM24, CM21, CM51, GAS233, GAS283, CM47, CM59, CM42, CM55, CM23, CM06, CM41), e foi assim nomeado por compreender espécimes determinadas como *F. callimorpha* por Vlasák *et al.*, (2011). *Fuscoporia callimorpha* está proximamente relacionada a *F. gilva* em seu conceito morfológico, mas, como demonstrado nesta filogenia, possuem uma distância filogenética pois ficam em clados separados.

4.2 DELIMITAÇÃO DE ESPÉCIES ATRAVÉS DE FERRAMENTAS DE BIOINFORMÁTICA

A análise de *Barcode gap* (fig. 3) confirmou a existência de um *gap* entre as espécies do complexo *Fuscoporia gilva* constatadas pela análise filogenética (figs 1 e 2), ambas corroboradas pelas análises de *PTP* e *ABGD* realizadas (fig 4). A análise de *Barcode gap* compara os pares de bases das sequências de DNA de todos os táxons da matriz, buscando a variação entre essas sequências. Quando a sequência de um táxon é comparada com ele mesmo sua variação é zero, já quando comparada com outros táxons esse valor varia conforme a diferença entre os pares de bases.

Cada ponto no gráfico da figura 3 é uma comparação entre táxons, sendo a primeira coluna a intraespecífica e a segunda coluna a interespecífica. A variação intraespecífica é pequena (0-1%), isto é, há uma variação muito pequena nas distâncias genéticas entre espécimes distintos dentro de um mesmo grupo, enquanto há uma elevada variação interespecífica entre os grupos (9-20%), já o gap varia de 1-9 %.

A análise de *barcode gap* mostra que há um *gap*, que seria a maior distância entre as comparações intraespecíficas e a menor entre as interespecíficas, corroborando com os grupos moleculares propostos pelo ABGD, que foram os agrupamentos usados na matriz de sequência para gerar a matriz *p* de distância. A partir desta análise há uma base para verificar molecularmente através da variação de pares de base se um táxon está inserido dentro da variação interespecífica ou intraespecífica.

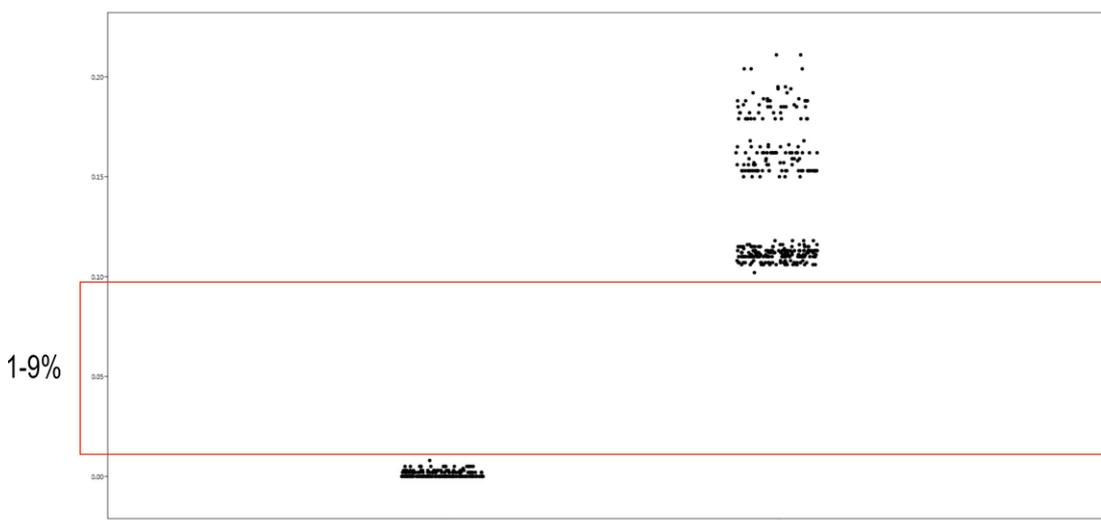


Fig 3: Análise Barcode gap das espécies filogenéticas dos complexos *Fuscoporia gilva* e *Fuscoporia callimorpha* baseada nas distâncias intraespecíficas e interespecíficas da região ITS.

As análises de *PTP* e *ABGD* estão apresentadas na mesma figura (fig. 4). Na coluna da esquerda os grupos moleculares propostos e aceitos pela análise de *PTP*, corroborando com os agrupamentos filogenéticos. A coluna da direita é composta pelos grupos moleculares propostos aceitos pela análise de *ABGD*, os quais também corroboram com os agrupamentos filogenéticos.

A análise de *PTP* (fig. 4), a partir da topologia do filograma de máxima verossimilhança, forneceu alguns agrupamentos de espécies, e o melhor agrupamento foi escolhido através do maior valor de sustentação destes grupos e com base na filogenia e morfologia dos grupos.

A análise de *ABGD* (fig. 4), a partir da matriz de sequências de DNA formou 23 agrupamentos, e a melhor análise de agrupamentos foi escolhida através da curva dos pontos e de acordo com a filogenia e morfologia dos grupos.

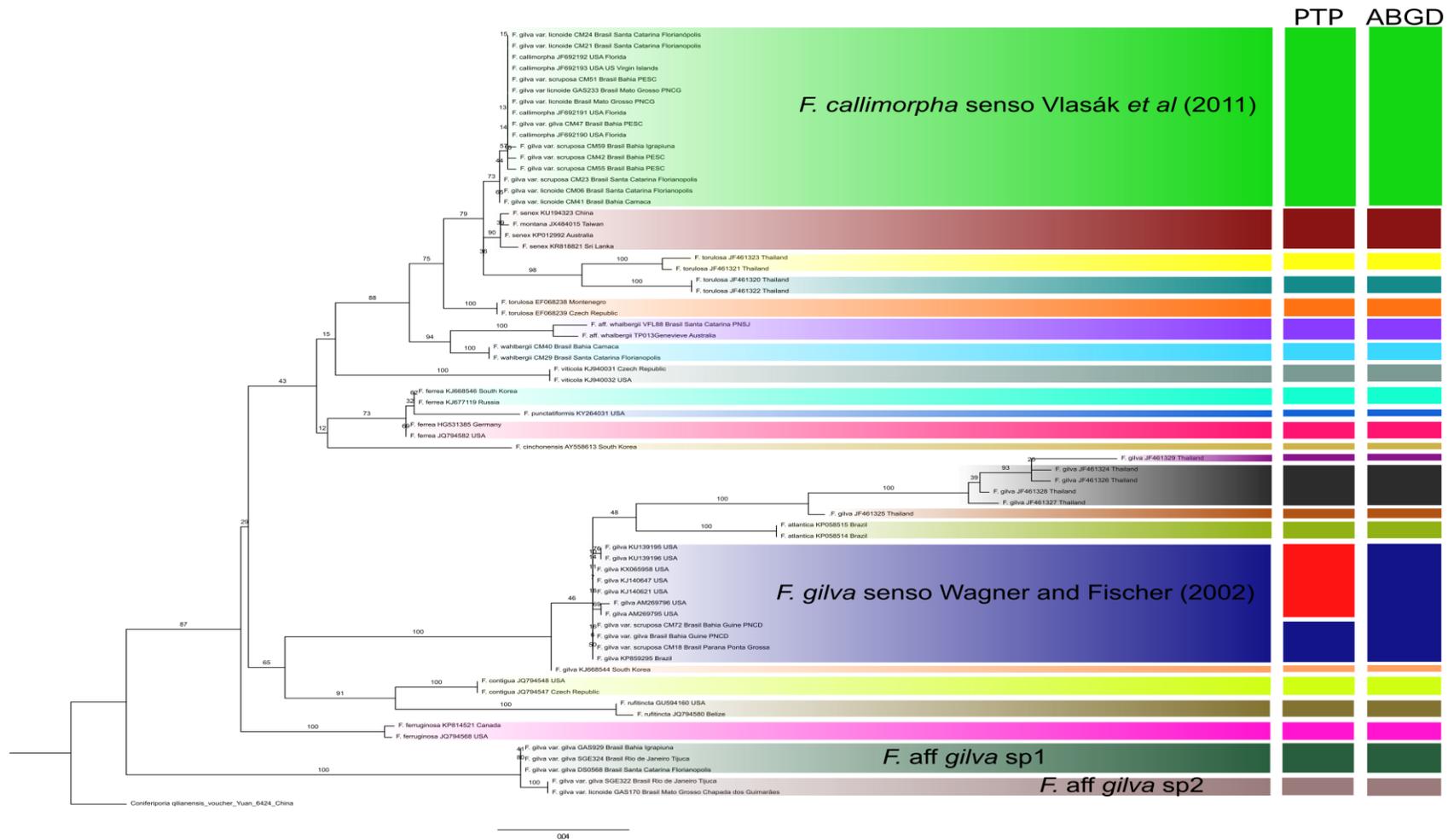


Fig 4: Reconstrução filogenética do gênero *Fuscoporia*, inferida a partir do marcador ITS com a topologia baseada na análise de MV. PTP (coluna da esquerda) e ABGD (colunas da direita). Grupo externo: *Coniferiporia qilianensis*.

Todas as três análises realizadas neste trabalho (*ABGD*, *PTP* e *Barcode gap*) foram concordantes com os filogramas (fig. 1 e fig. 2) apresentados neste trabalho, corroborando assim com os quatro clados filogenéticos do complexo *F. gilva*.

4.3 DESCRIÇÃO MORFOLÓGICA DAS ESPÉCIES, NOTAS TAXONÔMICAS E DE DISTRIBUIÇÃO

Fuscoportia gilva sensu Wagner & Fischer (2002) – (Fig. 5 e 6)

BASIDIOMAS sazonais, pileados, aplanados a efuso-reflexo, concrecentes, imbricados, até 65 mm de largura, 60 mm de comprimento e 15 mm de espessura, de consistência dura (Fig 5-A). SUPERFÍCIE DO PÍLEO, levemente tomentosa a glabra, lisa a estriada, variando entre amarelo amarronzado (HUE 10YR, 6/8) a marrom forte (HUE 7.5YR, 4/6) (Fig 5-B). MARGEM inicialmente com bordas inteiras finas amarelo amarronzado (HUE 10YR, 6/8), tornando-se lobada, grossa e finalmente pode tornar-se levemente revoluta (Fig 5-A,B e C) . HIMENÓFORO marrom amarelado escuro (HUE 10YR, 4/4) à marrom amarelado (HUE 10YR, 5/6) próximo a margem, poros redondos, 8-10 poros/mm, (50-) 77-111 (-170) μm de diâmetro, dissepimento de (20-) 43-72 (-240) μm de espessura (Fig 5-C). CONTEXTO conciso, azonada, até 4 mm de espessura, amarelo amarronzado (HUE 10YR, 6/8) (Fig 5-D). TUBOS indistintamente estratificados, até 2 mm de comprimento, com micélio esbranquiçado no interior dos tubos, marrom amarelado (HUE 10YR, 5/4) (Fig 5-D).

SISTEMA HIFAL dimitico, com hifas generativas até 3 μm de espessura, regularmente simples septada, ramificadas, de parede fina, hialinas a levemente amareladas, com incrustações na trama dos tubos próximo ao dissepimento (Fig 6-C e D), hifas esqueléticas quase sólidas, de parede engrossada, até 400 μm de comprimento e 6 μm de espessura, afinando-se a parede na região apical (Fig 6-B); SETAS himeniais subuladas de parede engrossada, (11-) 15-23 (-28) μm comprimento \times (3) 4-5 (-8) μm de largura (Fig 6-E e E'); CISTIDIÓLOS com a base ventricosa estreitando-se em direção ao ápice, (23-) 23-23 (-23) μm de comprimento \times (2-) 2-2 (-2) μm de largura, parede fina, hialinos, lisos, indextrinoides, inamiloides (Fig 6-E'); BASÍDIOS amplamente cilíndricos, (-7) 7-8,7 (-12) μm de comprimento \times (-4) 4-5 (-5) μm de largura, parede fina, hialinos, lisos, indextrinoides, inamiloides; BASIDIÓSPOROS elipsóides (-2) 2,6-3,5 (-4) μm de comprimento (-2) 2-2,5 (-2,6) μm de largura, parede fina, liso, hialino, indextrinoide, inamiloide (Fig 6-A, A' e A'').

Material examinado: BRASIL. Santa Catarina. Florianópolis: Departamento da Botânica, Campus UFSC Trindade, 25/05/2016. Comin, M., CM4 (FLOR). BRASIL. Santa Catarina. Florianópolis: Departamento da Botânica, Campus UFSC Trindade, 25/05/2016. Comin, M., CM5 (FLOR). BRASIL. Paraná. Ponta Grossa: Represa de Alagados, 31/07/2016. Comin, M., CM18 (FLOR). BRASIL. Bahia. Guiné: Chapada Diamantina, Vale do Pati, 23/09/2016. Comin, M.; Alves-Silva, G.; Costa-Rezende, D.H., CM66 (FLOR). BRASIL. Bahia. Guiné: Chapada Diamantina, Vale do Pati, 23/09/2016. Comin, M.; Alves-Silva, G.; Costa-Rezende, D.H., CM72 (FLOR). BRASIL. Bahia. Guiné: Chapada Diamantina, Vale do Pati, 23/09/2016. Comin, M.; Alves-Silva, G.; Costa-Rezende, D.H., CM73 (FLOR).

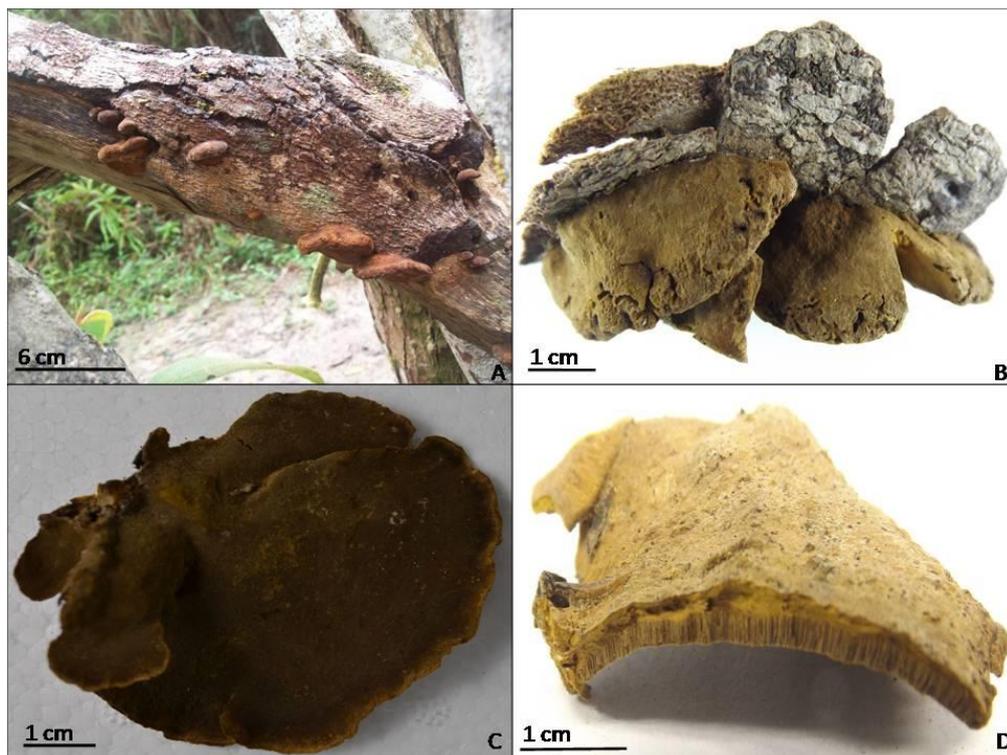


Fig 5: Basidiomas *Fuscoporia gilva* senso Wagner & Fischer (2002). A: Basidiomas em campo (CM66). B: Superfície superior do píleo (CM66). C: Himenóforo (CM05). D: Seção transversal do contexto e dos tubos (CM05).

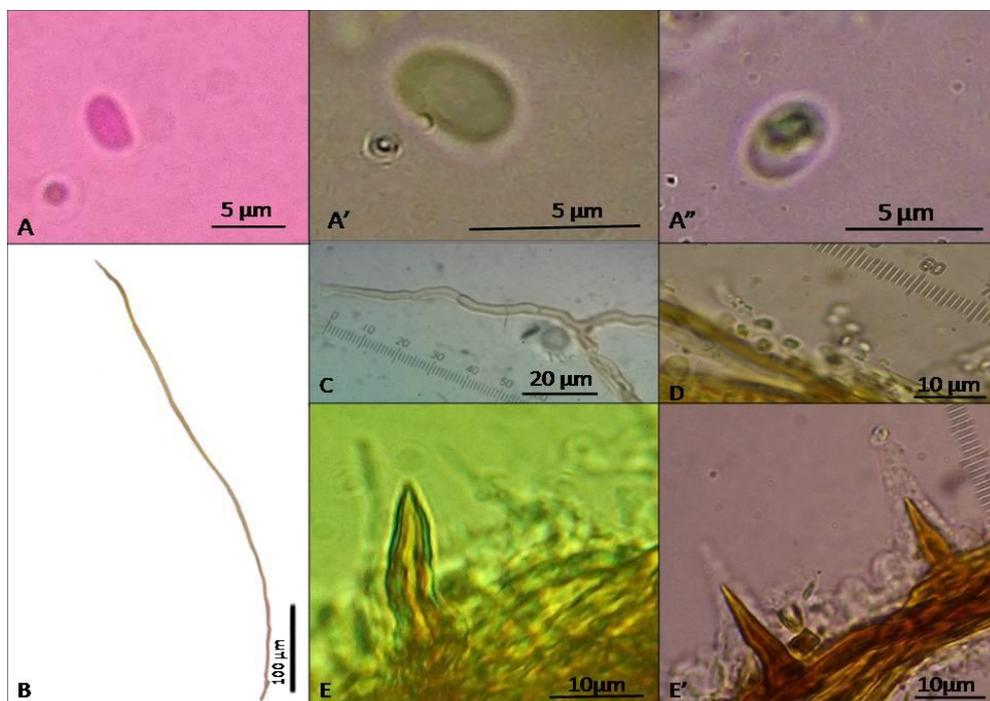


Fig 6: Estruturas microscópicas de *Fuscoporia gilva* senso Wagner & Fischer (2002). A: Basidiósporos em corante floxina. A': Basidiósporos em reagente de Melzer. A'': Basidiósporos em água. B: Hifa esqueletal em NaOH. C: Hifas generativas em NaOH. D: Terminações hifais com cristais incrustados em reagente de Melzer. E: Seta himenial e cystidiolos em reagente de Melzer. E' Seta himenial e cystidiolos em corante floxina.

Notas: Esta espécie é caracterizada pela superfície do píleo, levemente tomentosa a glabra, lisa a estriada. Margem inicialmente com bordas inteiras finas, tornando-se lobada, grossa e finalmente pode tornar-se levemente revoluta. *Fuscoporia gilva* sensu Wagner & Fischer (2002) ficou posicionada como um clado irmão de *F. atlantica*. *Fuscoporia atlantica* difere de *F. gilva* sensu Wagner & Fischer (2002) por apresentar crosta marrom escura na base do píleo, himenóforo amarelo dourado ferruginoso, setas himeniais curvadas e esporos maiores (Pires *et al.* 2015). *Fuscoporia callimorpha* segundo Groposo *et al.* (2007) possui basidiósporos de (3.2) 3.6-3.9 (4.3) x 2.2 µm, enquanto *F. gilva* sensu Wagner & Fischer (2002) são mensurados em (-2) 2,6-3,5 (-4) x (-2) 2-2,5 (-2,6) µm, ainda as duas espécies apresentam setas himeniais subuladas, ausência de tomento em *F. callimorpha* e levemente tomentosa a glabra em *F. gilva* sensu Wagner & Fischer (2002). *Fuscoporia flavomarginata* é muito similar a *F. gilva* sensu Wagner & Fischer (2002), se diferenciando somente pela presença de distintas camadas de tubos e a ausência de tomento. Ainda *F. rhabarbarina*, que é caracterizada por contexto amarelo, superfície do píleo glabra nas zonas sulcadas e uma distinta crosta negra, difere de *F. callimorpha*, *F. gilva* e *F. flavomarginata*, por apresentar setas himeniais ventricosas, ausência de tomento e ausência de distintas camadas de tubos. Também *F. gilva* sensu Wagner & Fischer (2002) pode ser comparada com *F. bifurcata*, sendo separadas pela presença de setas himeniais com ápice bifurcado e basidiósporos maiores em *F. bifurcata*. Além disso, *F. bifurcata* apresenta basidiomas solitários e himenóforo amarelado, enquanto *F. gilva* sensu Wagner & Fischer (2002) normalmente é imbricado e possui himenóforo marrom (Ryvarden and Johansen 1980, Loguercio-Leite and Wright 1995, Dai 1999) (Quadro 1). Em *F. gilva* sensu Wagner & Fischer (2002) ficaram posicionados espécimes que previamente foram determinados como *F. gilva* var. *gilva* e *F. gilva* var. *scruposa*, demonstrando que os conceitos morfológicos que circunscrevem as variedades não se sustentam filogeneticamente como agrupamentos infraespecíficos naturais, devido a essas morfologias terem sido encontradas distribuídas em diferentes clados da análise filogenética. Portanto, as variedades não são aceitas neste trabalho, bem como a hipótese de que as mesmas poderiam representar espécies independentes dentro do complexo *F. gilva*.

Distribuição: *Fuscoporia gilva* sensu Wagner & Fischer (2002) possui distribuição conhecida dentro do território brasileiro nos domínios fitogeográficos da Caatinga e Mata atlântica (Floresta Ombrofila Mista), porém sua distribuição potencial pode ser muito mais ampla tanto no território brasileiro quanto na América, pois alguns espécimes deste clado são oriundos do E.U.A. (Fig 13)

***Fuscoporia aff. gilva sp1* – (Fig. 7 e 8)**

BASIDIOMAS sazonais, pileados, aplanados a efuso-reflexo, concrecentes, imbricados, até 65 mm de largura, 40 mm de comprimento e 6 mm de espessura, de consistência dura. SUPERFÍCIE DO PÍLEO tomentosa, verrugosa de coloração marrom amarelado (HUE 10YR, 5/6) a marrom amarelado escuro (HUE 10YR, 4/6), tornando-se concentricamente zonada, levemente sulcada, com sulcos de cor marrom escura (HUE 7.5YR, 3/4), glabra, scruposa, azonada até levemente zonada, com leves estrias radiais de coloração cinza escuro (HUE 7.5YR, N3/0) a preto (HUE 7.5YR, N2/0) em basidiomas mais desenvolvidos (Fig 7-A). MARGEM inicialmente com bordas inteiras grossas, amarelo amarronzada (HUE 10YR, 6/8), tornando-se lobada, fina e revoluta (Fig 7-A). HIMENÓFORO marrom amarelado (HUE 10YR, 5/8) a amarelo amarronzado (HUE 10YR, 6/8) próximo a margem, poros redondos, 6-8 poros/mm, (60-) 82-122 (-150) µm de diâmetro, dissepimento inteiro (20-) 41-72 (-120) µm espessura, revivente em alguns basidiomas (Fig 7-B). CONTEXTO conciso, azonado, até 4 mm de espessura na base, de coloração marrom amarelado (HUE 10YR, 5/8), fina cutícula negra na superfície (que pode ser observada em cortes transversais) em basidiomas desenvolvidos (Fig 7-C). TUBOS indistintamente estratificados, até 3 mm de profundidade, marrom amarelados (HUE 10YR, 5/8), micélio esbranquiçado presente no interior dos tubos, alguns casos com cristais na trama dos tubos (Fig 7-C).

SISTEMA HIFAL dimítico, hifas generativas até 3 μm de espessura, simples septada, ramificadas, parede fina, hialinas a amarelo pálido, com incrustações na trama dos tubos próximo ao dissepimento (Fig 8-B,B' e D), hifas esqueléticas quase sólidas, de parede engrossada, até 300 μm de comprimento e 6 μm de espessura, afinando a parede na região apical (Fig 8-C); SETAS himeniais subuladas de parede engrossada, (13-) 19-27 (-33) μm comprimento \times (2-) 4-5 (-8) μm de largura (Fig 8-E, E' e E''); CISTIDIÓLOS com a base ventricosa estreitando-se em direção ao ápice, (16-) 21,5-28 (-30) μm de comprimento \times (1-) 2-3 (-3) μm de largura, de parede fina, hialinos, lisos, indextrinoides, inamiloides (Fig 8-E''); BASÍDIOS amplamente cilíndricos, (6-) 6-9 (-9) μm de comprimento \times (3-) 3-4 (-4) μm de largura, parede fina, hialinos, lisos, indextrinoides, inamiloides; BASIDIÓSPOROS amplamente elipsóides (3-) 3-4 (-4) μm de comprimento \times (2-) 2-3 (-3) μm de largura, parede fina, liso, hialino, indextrinóide, inamilóide (Fig 8-A e A').

Material examinado: BRASIL. Santa Catarina. Florianópolis: Trilha Lagoinha do Leste, 13/02/2011. Drechsler-Santos, DS0568 (FLOR). BRASIL. Mato Grosso. Parque Nacional Chapada dos Guimarães, 05/08/2012. Alves-Silva, G., GAS261 (FLOR). BRASIL. Bahia.Uruçuca: Parque Estadual Serra do Conduru, 20/09/2016. Alves-Silva, G., Costa-Rezende, D.H.; Comin, M., GAS911 (FLOR). BRASIL. Bahia. Uruçuca: Parque Estadual Serra do Conduru, 21/09/2016. Alves-Silva, G., Costa-Rezende, D.H.; Comin, M., GAS929 (FLOR). BRASIL. Rio de Janeiro. Tijuca: Parque Nacional da Tijuca, 08/04/2016. Galvão-Elias, S., SGE324 (FLOR).

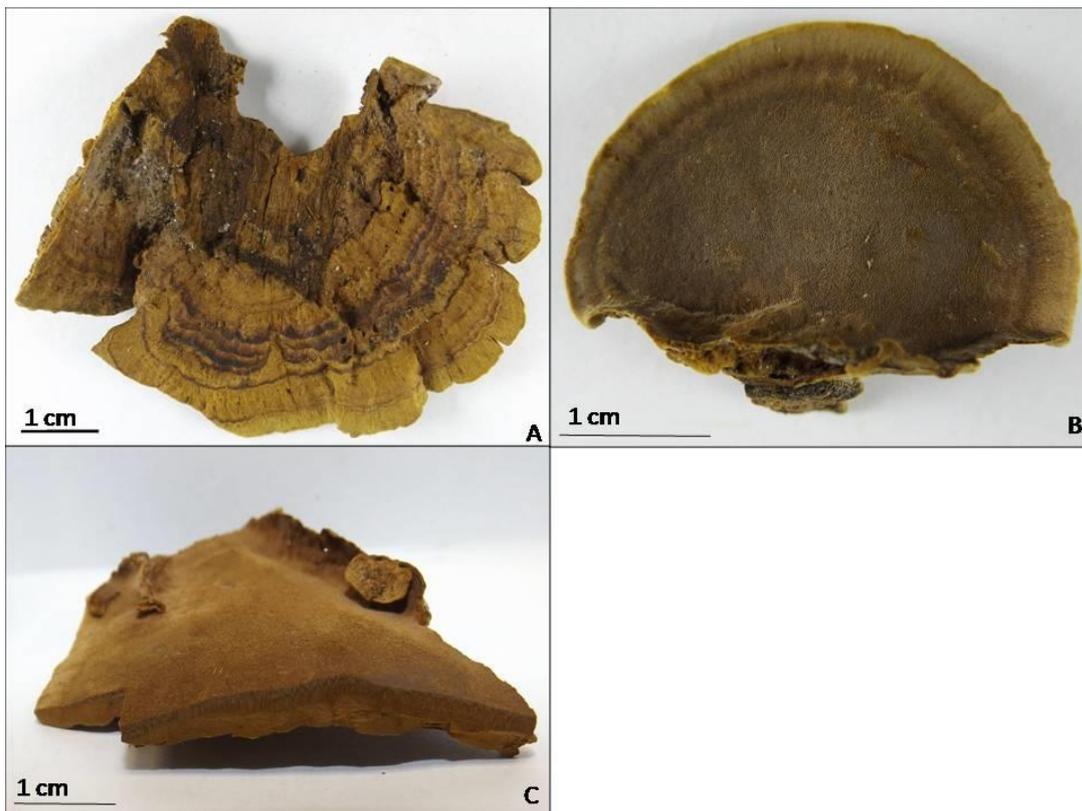


Fig 7: Fotografias dos basidiomas de *Fuscoporia aff. gilva* sp1 A: Superfície superior do píleo(SGE324). B: Himenóforo (GAS261). C: Seção transversal do contexto e dos tubos (GAS261)

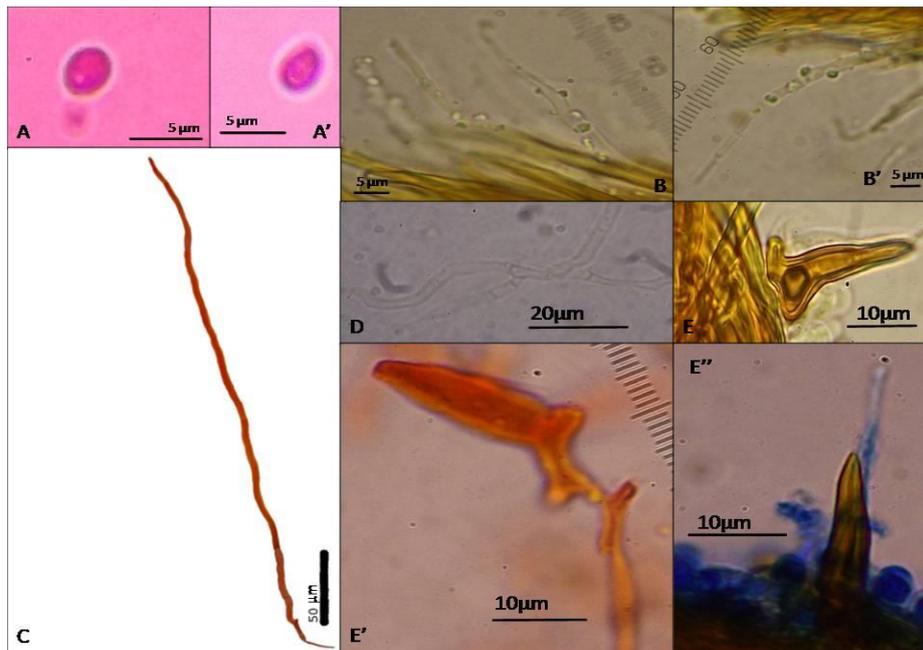


Fig 8: Estruturas microscópicas de *Fuscoporia* aff. *gilva* sp1. A e A': Basidiósporos em corante floxina. B e B': terminações hifais com cristais incrustados em reagente de Melzer. C: Hifa esquelética. D: Hifas generativas. E: Seta himenial em reagente de Melzer. E' Seta himenial em NaOH e vermelho congo. E'': Seta himenial e cistidiolos em azul de algodão.

Notas: Esta espécie é caracterizada pela superfície do píleo tomentosa, verrugosa, tornando-se concentricamente zonada, levemente sulcada, em basidiomas mais desenvolvidos torna-se glabra, scruposa, azonada até levemente zonada, com leves estrias radiais. Margem inicialmente com bordas inteiras grossas, tornando-se lobada, fina e revoluta. Possui himenóforo revivente em alguns basidiomas. Em materiais desenvolvidos apresenta uma fina cutícula negra na superfície que pode ser observada em cortes transversais. O clado *Fuscoporia* aff. *gilva* sp1 (MV=80 e IB=1) ficou posicionado com *F. aff. gilva* sp2. em *Fuscoporia* com um alto valor de sustentação (MV=100 e IB=1). *Fuscoporia rhabarbarina*, diferentemente, apresenta contexto amarelo, superfície superior do píleo glabra, setas himeniais ventricosas e ausência de tomento (Groposo *et al.* 2007). Em comparação com *F. gilva* senso Wagner & Fischer (2002), *F. aff. gilva* sp1 apresenta 6 a 9 poros/mm enquanto a primeira possui de 8 a 10 poros/mm e são similares em relação à *F. aff. gilva* sp2 por possuir basidiósporos amplamente elipsóides enquanto *F. gilva* senso Wagner & Fischer (2002) apresenta basidiósporos elipsóides (Quadro 1). Dentro do clado *F. aff. gilva* sp1 encontram-se espécimes que foram previamente determinados como sendo das variedades *F. gilva* var. *gilva* e *F. gilva* var. *licnoide*, demonstrando que os conceitos morfológicos que circunscrevem as variedades não se sustentam filogeneticamente como agrupamentos infraespecíficos naturais, devido a essas morfologias terem sido encontradas distribuídas em diferentes clados da análise filogenética. Portanto, as variedades não são aceitas neste trabalho, bem como a hipótese de que as mesmas poderiam representar espécies independentes dentro do complexo *F. gilva*.

Distribuição: *Fuscoporia* aff. *gilva* sp1 possui distribuição conhecida dentro do território brasileiro no domínio fitogeográfico da Mata Atlântica (Floresta Ombrofila Densa), principalmente na região costeira litorânea desde o nordeste até o sul do Brasil (Fig 13)

Fuscoporia aff. gilva sp2 (Fig. 9 e 10)

BASIDIOMAS sazonais, pileados, aplanados a efuso-reflexo, concrecentes, imbricados, até 50 mm de largura, 45 mm de comprimento e 6 mm de espessura, de consistência dura. SUPERFÍCIE DO PÍLEO aveludada, verrugosa, marrom amarelado (HUE 10YR, 5/6) a marrom amarelado escuro (HUE 10YR, 5/4), tornando-se concêntrica zonada, levemente sulcada, com sulcos de cor marrom escura (HUE 7.5YR, 3/4), em basidiomas mais desenvolvidos torna-se glabra, scruposa, azonada até levemente zonada, com leves estrias radiais cinza escuro (HUE 7.5YR, N3/0) a preto (HUE 7.5YR, N2/0) (Fig 9-A e A'). MARGEM inicialmente com bordas inteiras amarelo amarronzado (HUE 10YR, 6/8), tornando-se lobada, fina e revoluta. HIMENÓFORO marrom amarelado (HUE 10YR, 5/8) a amarelo amarronzado (HUE 10YR, 6/8) próximo a margem, poros redondos, 8-12 poros/mm, (60-) 82-96 (-120) μm de diâmetro, dissepimento inteiro de (20-) 41,5-46 (-90) μm de espessura, revivente em alguns basidiomas (Fig 9-C). CONTEXTO conciso, azonada, até 4 mm de espessura na base, marrom amarelado (HUE 10YR, 5/8) em materiais desenvolvidos apresenta uma fina cutícula negra na superfície observados em cortes transversais. TUBOS indistintamente estratificados, até 3 mm de comprimento, marrom amarelado (HUE 10YR, 5/8), com micélio esbranquiçado no interior dos tubos, alguns casos com cristais na trama dos tubos (Fig 9-B).

SISTEMA HIFAL dimitico, com hifas generativas até 3 μm de espessura, regularmente simples septada, ramificadas, de parede fina, hialinas a amarelo pálido, com incrustações na trama dos tubos próximo ao dissepimento (Fig 10-B e F), hifas esqueléticas quase sólidas, de parede engrossada, até 300 μm de comprimento e 6 μm de espessura, afinando-se a parede na região apical (Fig 10-E); SETAS himeniais subuladas de parede engrossada, (13-) 19-25 (-28) μm comprimento \times (3-) 4,7-5,2 (-7) μm de largura (Fig 10-C); CISTIDIÓLOS com a base ventricosa estreitando-se em direção ao ápice, (16-) 21,5-28 (-30) μm de comprimento \times (1-) 2-3 (-3) μm de largura, de parede fina, hialinos, lisos, indextrinoides, inamiloides (Fig 10-D); BASÍDIOS amplamente cilíndricos, (6-) 6-9 (-9) μm de comprimento \times (3-) 3-4 (-4) μm de largura, parede fina, hialinos, lisos, indextrinoides, inamiloides; BASIDIÓSPOROS amplamente elipsóides (3-) 3-4 (-4) μm de comprimento \times (2-) 2-3 (-3) μm de largura, parede fina, liso, hialino, indextrinoide, inamiloide (Fig 10-A e A').

Material examinado: BRASIL. Mato Grosso. Parque Nacional Chapada dos Guimarães, 20/05/2012. Alves-Silva, G., GAS170 (FLOR). BRASIL. Rio de Janeiro. Tijuca: Parque Nacional da Tijuca, 09/04/2016. Galvão-Elias, S., SGE322 (FLOR).

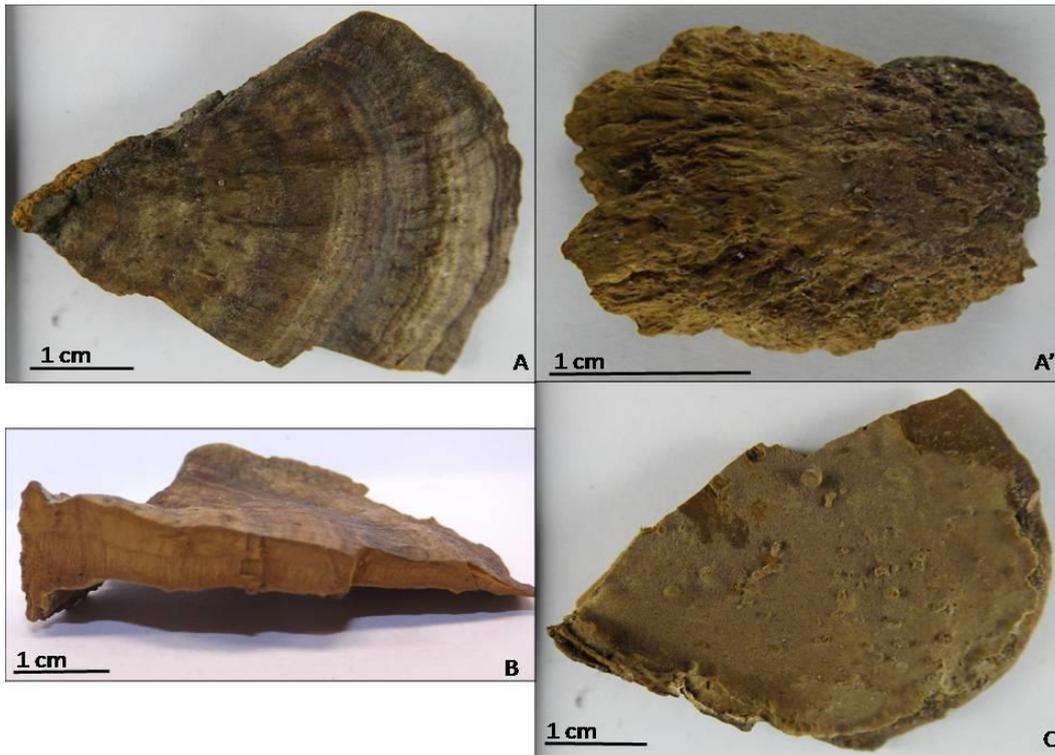


Fig 9: Fotografias dos basidiomas de *Fuscoporia aff gilva* sp2. A: Superfície superior do píleo (GAS170) e A': Superfície superior do píleo (SGE322) B: Seção transversal do contexto e dos tubos (GAS170). C: Himenóforo (GAS170).

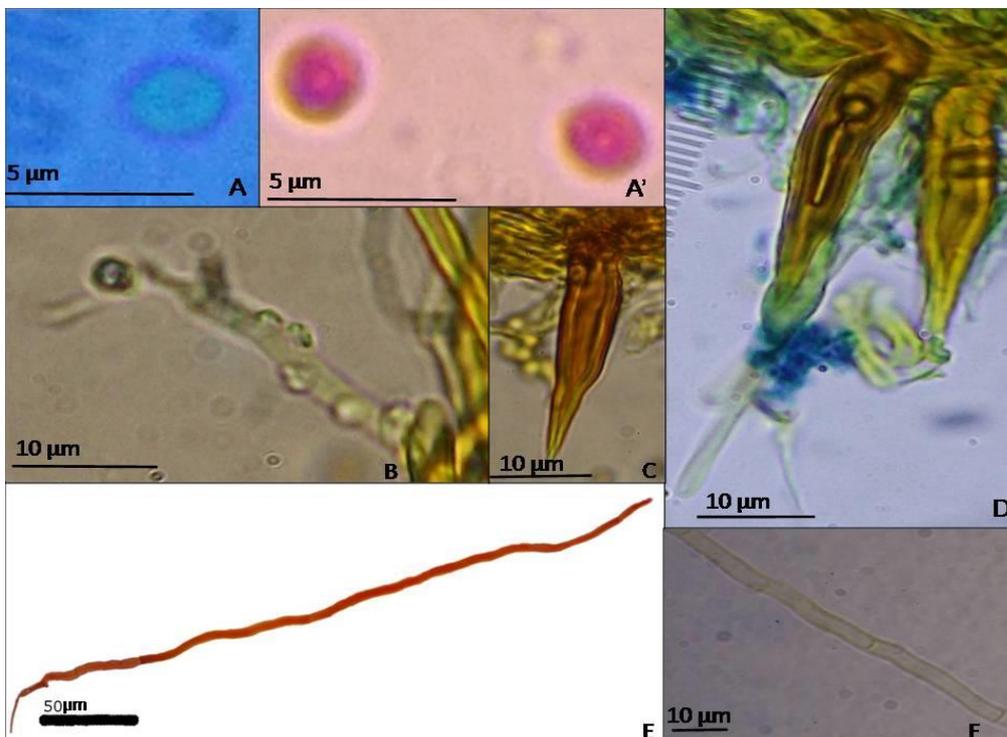


Fig 10: Estruturas microscópicas de *Fuscoporia aff gilva* sp2. A: Basidiósporos em azul de algodão e A': Basidiósporos em corante floxina. B: Terminações hifais com cristais incrustados em reagente Melzer. C: Seta himenial em reagente Melzer. D: Seta himenial e cistidiolos em azul de algodão. E: Hifa esqueletal em NaOH. F: Hifas generativas em NaOH.

Notas: Esta espécie é caracterizada pela superfície do píleo aveludada, verrugosa, tornando-se concentricamente zonada, levemente sulcada, em basidiomas mais desenvolvidos torna-se glabra, scruposa, azonada até levemente zonada, com leves estrias radiais. Margem inicialmente com bordas inteiras, tornando-se lobada, fina e revoluta. Possui himenóforo revivente em alguns basidiomas. Em materiais desenvolvidos apresenta uma fina cutícula negra na superfície que pode ser observada em cortes transversais. *Fuscoporia aff. gilva sp2* é um clado irmão de *F. aff gilva sp1*, e ficou em uma posição basal das filogenia do gênero *Fuscoporia* com um alto valor de suporte (MV=100 e IB=1). *Fuscoporia aff gilva sp2* difere de *F. flavomarginata*, pois esta possui a presença de distintas camadas de tubos e não possui tomento (Groposo et al. 2007) e diferencia-se de *F. aff gilva sp1*, pois esta possui de 6 a 9 poros p/mm enquanto *F. aff gilva sp2* possui de 8 a 12 poros p/mm. Ainda *F. aff gilva sp2* difere de *F. gilva* senso Wagner & Fischer (2002) (Quadro 1) por esta apresentar superfície do píleo, levemente tomentosa a glabra, lisa a estriada, enquanto *F. aff gilva sp2* possui a superfície do píleo aveludada, verrugosa, tornando-se concentricamente zonada, levemente sulcada, com sulcos de cor marrom escura (HUE 7.5YR, 3/4), em basidiomas mais desenvolvidos torna-se glabra, scruposa, azonada até levemente zonada, com leves estrias radiais cinza escuro (HUE 7.5YR, N3/0) a preto (HUE 7.5YR, N2/0) (Fig 9-A e A'). Dentro deste clado encontram-se espécimes que foram previamente determinados como sendo das variedades *F. gilva* var. *gilva* e *F. gilva* var. *licnoide* demonstrando que os conceitos morfológicos que circunscrevem as variedades não se sustentam filogeneticamente como agrupamentos infraespecíficos naturais, devido a essas morfologias terem sido encontradas distribuídas em diferentes cladogramas da análise filogenética. Portanto, as variedades não são aceitas neste trabalho, bem como a hipótese de que as mesmas poderiam representar espécies independentes dentro do complexo *F. gilva*.

Distribuição: *Fuscoporia aff gilva sp2* possui distribuição conhecida dentro do território brasileiro nos domínios fitogeográficos do Cerrado e da Mata Atlântica (Floresta Ombrofila Densa) (Fig 13).

***Fuscoporia callimorpha* senso Vlasák et al. (2011) (Fig. 11 e 12)**

BASIDIOMAS sazonais, pileados, aplanados a efuso-reflexo, concrecentes, imbricados, até 60 mm de largura, 40 mm de comprimento e 5 mm de espessura, com consistência dura (Fig 11-A). SUPERFÍCIE DO PÍLEO, tomentosa, verrugosa, marrom amarelado (HUE 10YR, 5/6) a marrom amarelado escuro (HUE 10YR, 4/6), tornando-se concentricamente zonada, levemente sulcada, com sulcos de cor marrom escura (HUE 7.5YR, 3/4) a preto (HUE 7.5YR, N2/0) com leves estrias radiais (Fig 11-B). MARGEM inicialmente com bordas inteiras grossas, amarelo amarronzado (HUE 10YR, 6/8), tornando-se ondulada e fina (Fig 11-B). HIMENÓFORO marrom amarelado (HUE 10YR, 5/8) a amarelo amarronzado (HUE 10YR, 6/8) próximo a margem, redondos, 7-10 poros/mm, (40-) 50-102 (-140) µm de diâmetro, dissepimento de (10-) 32-63 (-160) µm de espessura (Fig 11-D). CONTEXTO conciso, azonada, até 3 mm de espessura, marrom amarelado (HUE 10YR, 5/8) em materiais desenvolvidos apresenta uma fina cutícula negra na superfície observados em cortes transversais (Fig11-C). TUBOS indistintamente estratificados, até 2 mm de comprimento, com micélio esbranquiçado no interior dos tubos, marrom amarelado (HUE 10YR, 5/8) (Fig 11-C).

SISTEMA HIFAL dimitico, com hifas generativas até 3 µm de espessura, regularmente simples septada, ramificadas, de parede fina, hialinas a levemente amareladas, com incrustações na trama dos tubos próximo ao dissepimento (Fig 12-D e E), hifas esqueléticas quase sólidas, de parede engrossada, até 400 µm de comprimento e 4 µm de espessura, afinando-se a parede na região apical (Fig 12-F); SETAS himeniais subuladas de parede engrossada, (13-) 16-27 (-35) µm comprimento × (3-) 4-6 (-8) µm de largura (Fig 12-C e C'); CISTIDIÓLOS com a base ventricosa estreitando-se em direção ao ápice, (16-) 23-28 (-45) µm de comprimento × (2-) 2-3 (-3) µm de largura, parede fina, hialinos, lisos,

indextrinoides, inamiloídes (Fig 12-B e B'); BASÍDIOS amplamente cilíndricos, (7-) 8-10 (-12) μm de comprimento \times (4-) 4-5 (-5) μm de largura, parede fina, hialinos, lisos, indextrinoides, inamiloídes; BASIDIÓSPOROS elipsóides (2-) 2,6-3,5 (-4) μm de comprimento \times (1-) 2-2,5 (-3) μm de largura, parede fina, liso, hialino, indextrinóide, inamiloíde (Fig 12-A e A').

Material examinado: BRASIL. Santa Catarina. Florianópolis: Departamento da Botânica, Campus UFSC Trindade, 25/05/2016. Comin, M., CM6 (FLOR). BRASIL. Santa Catarina. Florianópolis: Lagoa do Peri, 11/08/2016. Comin, M., CM21 (FLOR). BRASIL. Santa Catarina. Florianópolis: Lagoa do Peri, 11/08/2016. Comin, M., CM23 (FLOR). BRASIL. Santa Catarina. Florianópolis: Lagoa do Peri, 11/08/2016. Comin, M., CM24 (FLOR). BRASIL. Bahia. Camacã: RPPN Serra Bonita, 18/09/2016. Comin, M., Alves-Silva, G.; Costa-Rezende, D.H., CM41 (FLOR). BRASIL. Bahia. Uruçuca: Parque Estadual Serra do Conduru, 19/09/2016. Comin, M., Alves-Silva, G.; Costa-Rezende, D.H., CM42 (FLOR). BRASIL. Bahia. Uruçuca: Parque Estadual Serra do Conduru, 19/09/2016. Comin, M., Alves-Silva, G.; Costa-Rezende, D.H., CM46 (FLOR). BRASIL. Bahia. Uruçuca: Parque Estadual Serra do Conduru, 20/09/2016. Comin, M., Alves-Silva, G.; Costa-Rezende, D.H., CM47 (FLOR). BRASIL. Bahia. Uruçuca: Parque Estadual Serra do Conduru, 20/09/2016. Comin, M., Alves-Silva, G.; Costa-Rezende, D.H., CM51 (FLOR). BRASIL. Bahia. Uruçuca: Parque Estadual Serra do Conduru, 20/09/2016. Comin, M., Alves-Silva, G.; Costa-Rezende, D.H., CM55 (FLOR). BRASIL. Bahia. Igrapiuna: Reserva Ecologica Michellin, 21/09/2016. Comin, M., Alves-Silva, G.; Costa-Rezende, D.H., CM59 (FLOR). BRASIL. Mato Grosso. Parque Nacional Chapada dos Guimarães, 05/08/2012. Alves-Silva, G., GAS233 (FLOR). BRASIL. Mato Grosso. Parque Nacional Chapada dos Guimarães, 05/08/2012. Alves-Silva, G., GAS283 (FLOR).

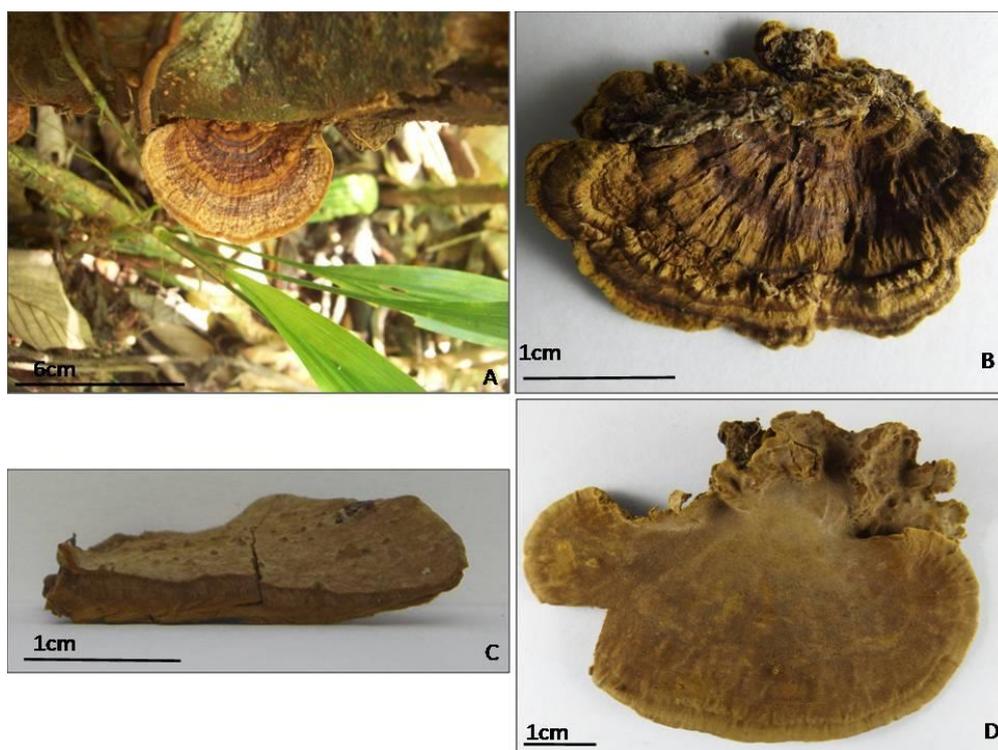


Fig 11: Fotografias dos basidiomas de *Fuscoporia callimorpha* sensu Vlasák *et al.* (2011). A: Basidiomas em campo (CM59). B: Superfície superior do píleo (CM24). C: Seção transversal do contexto e dos tubos (CM23). D: Himenóforo (CM59).

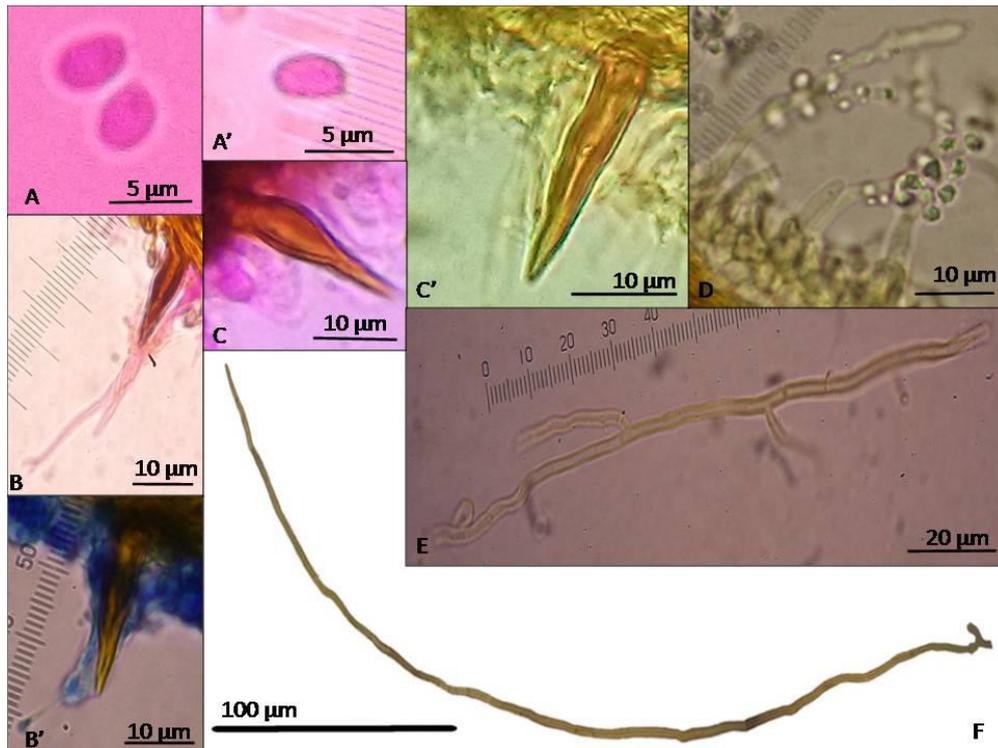


Fig 12: Estruturas microscópicas de *Fuscoporia callimorpha* sensu Vlasák et al. (2011). A e A': Basidiósporos em corante floxina. B: Seta himenial e cystidiolos em corante floxina. B': Seta himenial e cystidiolos em azul de algodão. C: Seta himenial em corante floxina. C': Seta himenial em reagente de Melzer. D: Terminações hifais com cristais incrustados em reagente de Melzer. E: Hifas generativas em NaOH. F: Hifa esquelética em NaOH.

Notas: Esta espécie é caracterizada pela superfície do píleo, tomentosa, verrugosa, tornando-se concentricamente zonada, levemente sulcada, com leves estrias radiais. Margem inicialmente com bordas inteiras grossas de tornando-se ondulada e fina. Em materiais desenvolvidos apresenta uma fina cutícula negra na superfície que podem ser observada em cortes transversais. No clado *Fuscoporia callimorpha* sensu Vlasák et al. (2011) ficaram posicionados espécimes determinados como *F. callimorpha* (Vlasák et al. 2011), com um alto valor de sustentação (MV=88 e IB=0,896). Segundo Ryvar den & Johansen (1980) *F. callimorpha* pode ser separada de *F. gilva* pelos basidiósporos mais estreitos. No entanto, de acordo com Groposo et al. (2007), ambas as espécies podem apresentar esporos elipsóides. De acordo com Ryvar den & Johansen (1980, como *Phellinus callimorphus* (Lev.) Ryv.), que estudou espécimes de *Fuscoporia callimorpha* da África, inclusive do tipo de Madagascar, a espécie possui basidiósporos medindo (3.2) 3.6-3.9 (4.3) x 2.2 µm. *Fuscoporia callimorpha* sensu Vlasák et al. (2011) possuem basidiósporos elipsoides de (2-) 2,6-3,5 (-4) x (1-) 2-2,5 (-3) µm. Os materiais analisados por Groposo et al. (2007) revelaram diferenças nas setas himeniais, subulada em *F. callimorpha* e ventricosa em *F. gilva* assim como a ausência de tomento em *F. callimorpha*. Os materiais analisados de *F. callimorpha* sensu Vlasák et al. (2011) possuem setas himeniais subuladas e basidiósporos de tamanho mais relacionados a *F. callimorpha* (Ryvar den & Johansen 1980, como *P. callimorphus*). A única característica que distingue os espécimes do clado *F. callimorpha* sensu Vlasák et al. (2011) do conceito morfológico de *F. callimorpha* (Ryvar den & Johansen 1980, como *P. callimorphus*) é que este primeiro apresenta tomento na superfície superior do píleo. Demonstrando ainda mais a necessidade de que espécimes da localidade do tipo sejam utilizados em análises filogenéticas moleculares. Do ponto de vista morfológico, estas análises sustentam a estreita relação entre as espécies do complexo *F. gilva* e *F. callimorpha* (Ryvar den &

Johansen 1980, como *P. callimorphus*), o que dificulta a determinação das espécies somente por caracteres morfológicos. Ainda, *F. callimorpha* pode ser comparada morfológicamente com *Phellinus roseocinereus* (Murrill) Reid., que de acordo com Vlasák *et al.*, (2011) se diferenciam devido a *P. roseocinereus* não apresentar setas. Por outro lado, *Phellinus roseocinereus*, descrito como *Pyropolyporus roseo-cinereus* Murrill a partir de material de Cuba, já foi tratado como sinônimo de *F. callimorpha* por Ryvarden & Johansen (1980, como *P. callimorphus*). O que sugere que estes táxons merecem um estudo mais aprofundado para um tratamento taxonômico mais adequado. *Fuscoporia callimorpha* senso Vlasák *et al.* (2011) se diferencia de *F. gilva* senso Wagner & Fischer (2002) (Quadro 1) por apresentar superfície do píleo concentricamente zonada, levemente sulcada, com leves estrias radiais (Fig 11-B), margem inicialmente com bordas inteiras grossas, tornando-se ondulada e fina, enquanto *F. gilva* senso Wagner & Fischer (2002) se caracteriza por apresentar a superfície do píleo, levemente tomentosa a glabra, lisa a estriada (Fig 5-B) e margem inicialmente com bordas inteiras finas, tornando-se lobada, grossa e finalmente pode tornar-se levemente revoluta. Ainda dentro deste clado encontram-se espécimes que foram previamente determinados como sendo das variedades *F. gilva* var. *gilva*, *F. gilva* var. *licnoide* e *F. gilva* var. *scruposa*, demonstrando que os conceitos morfológicos que circunscrevem as variedades não se sustentam filogeneticamente como agrupamentos infraespecíficos naturais, devido a essas morfologias terem sido encontradas distribuídas em diferentes clados da análise filogenética. Portanto, as variedades não são aceitas neste trabalho, bem como a hipótese de que as mesmas poderiam representar espécies independentes dentro do complexo *F. gilva*.

Distribuição: *Fuscoporia callimorpha* senso Vlasák *et al.* (2011) possui distribuição conhecida dentro do território brasileiro no domínio fitogeográfico da Mata atlântica (Floresta Ombrófila Densa), principalmente na região costeira litorânea desde o nordeste até o sul do Brasil, além de ser coexistente com a espécie *F. aff gilva* sp1. Porém sua distribuição potencial pode ser muito mais ampla, pois alguns espécimes deste clado são oriundos do E.U.A. (Fig 13)

Domínios Fitogeográficos

- Amazônia
- Caatinga
- Cerrado
- Mata Atlântica
- Pampa
- Pantanal

-  *F. gilva* senso Wagner and Fischer (2002)
-  *F. aff gilva* sp1
-  *F. aff gilva* sp2
-  *F. callimorpha* senso Vlasák *et al* (2011)

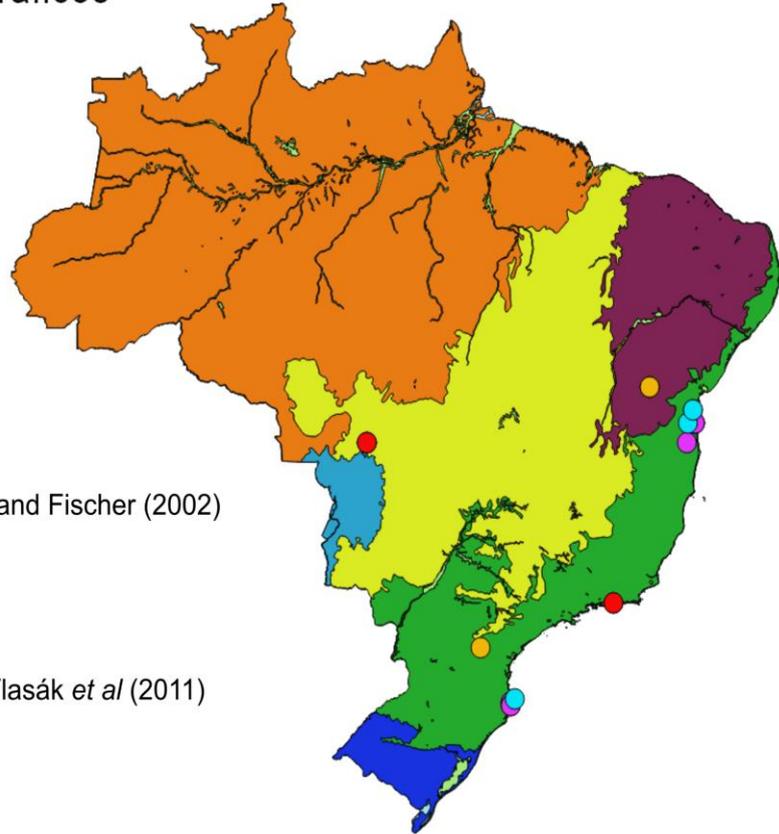


Fig 13: Distribuição biogeográfica no território brasileiro dos espécimes do gênero *Fuscoporia*, coletados para o presente trabalho.

Quadro 1: : Comparação entre espécies do gênero *Fuscoporia* (*Hymenochaetaceae*)

	<i>F. callimorpha</i> Ryvarden & Johansen 1980, como <i>P.</i> <i>callimorphus</i>)	<i>F. gilva</i> Ryvarden & Johansen 1980, como <i>P. gilvus</i>)	<i>F. rhabarbarina</i>	<i>F.</i> <i>flavomarginata</i>	<i>F. senex</i>	<i>F.</i> <i>wahlbergii</i>	<i>F. atlantica</i>	<i>F. aff. gilva</i> <i>sp1</i>	<i>F. gilva</i> <i>sensu</i> Wagner & Fischer (2002)	<i>F.</i> <i>callimorpha</i> <i>sensu</i> Vlasák et al. (2011)	<i>F.aff. gilva</i> <i>sp2</i>
Basidioma	Pileado	Efuso- reflexo	Pileado	Efuso-reflexo	Pileado	Pileado	Efuso- reflexo	Pileado	Pileado	Efuso- reflexo a pileado	Pileado
Poros/mm	6 a 9	6 a 9	6 a 9	6 a 9	6 a 9	6 a 9	7 a 9	6 a 9	8 a 10	7 a 9	8 a 12
Cor contexto	Marrom	Marrom	Amarelo	Marrom	Amarelo	Marrom	Amarelo	Amarelo	Amarelo	Marrom	Amarelo
Forma da seta himenial	Subulada	Ventricosa	Ventricosa	Ventricosa	Subulada a ventricosa	Ventricosa	Subulada a ventricosa	Subulada	Subulada	Ventricosas e subuladas	Subulada
Apice da seta himenial	Reto	Reto	Reta	Reta	Reta	Curvada e reta	Curvada	Reta	Reta	Reta	Reta
Seta tramal	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente
Hifa incrustada	Presente	Presente	Presente	Presente	Presente	Presente	Presente	Presente	Presente	Presente	Presente
Parede do basidiósporo	Fina	Fina	Fina	Fina	Fina	Fina	Fina	Fina	Fina	Fina	Fina
Pigmentação do basidiosporo	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Hialinos a amarelos	Hialinos	Hialinos	Hialinos	Hialinos
Reação dextrinoide	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa
Reação cianofila	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa
Forma do basidiósporo	Elipsóide	Elipsóide	Elipsóide	Elipsóide	Elipsóide	Elipsóide	Elipsóide	Amplamente elipsóides	Elipsóides	Elipsóide	Elipsóide
Camadas dos tubos	Perene	Perene a anual	Perene	Anual	Perene	Perene	Anual	Anual	Anual	Anual	Anual
Localidade tipo	Madagascar	EUA, Carolina do Norte	Provavelmente do Brasil	Cuba	Ilha Juan Fernandez (Chile)	Costa sudeste da Africa do Sul	Floresta Atlantica,				
Distribuição geografica	Pantropical	Pantropical	Pantropical	Neotropical	Pantropical	Pantropical	Floresta Atlantica				

O Quadro 1 apresenta comparações entre espécies do gênero *Fuscoporia* (*Hymenochaetaceae*), utilizando características morfológicas macro e microscópicas, informações sobre a localidade do tipo e distribuição geográfica, o qual demonstra sobreposições de morfologias para espécies previamente determinadas como *F. gilva* e outras proximamente relacionadas, assim como citado por Groposo *et al* (2007) também sobre as espécies proximamente relacionadas morfológicamente a *F. gilva* como *F. callimorpha*, *F. rhabbarbarina* e *F. flavomarginata* que compartilham características morfológicas como forma e hábito do basidioma, formato das setas himeniais e tamanho e forma dos basiósporos. E também com relação às variedades dentro de *F. gilva* onde os conceitos morfológicos que circunscrevem as variedades não se sustentam filogeneticamente como agrupamentos infraespecíficos naturais, devido a essas morfologias terem sido encontradas distribuídas em diferentes clados da análise filogenética. Portanto, as variedades não são aceitas neste trabalho, bem como a hipótese de que as mesmas poderiam representar espécies independentes dentro do complexo *F. gilva*. Além disso, estas espécies que estão dentro do complexo taxonômico *F. gilva* por apresentarem muita sobreposição morfológica poderiam ser consideradas espécies crípticas.

Ainda dentro de *Hymenochaetaceae* podemos observar outros exemplos de complexos taxonômicos com espécies crípticas como é o caso de *Fomitiporia apiahynia* (Speg.) Robledo, Decock & Rajchenb., o qual foi testado recentemente, a partir de espécimes da America, por Amalfi & Decock (2013) e Amalfi *et al.* (2014) onde verificaram através de abordagem filogenética molecular que materiais morfológicamente relacionados à *F. apiahynia* correspondem a cinco linhagens distintas. Uma delas, *Fomitiporia apiahynia sensu* Amalfi & Decock, com espécimes morfológicamente mais próximos ao holótipo e *Fomitiporia* sp. PS (*Phylogenetic Species*) 1, PS2, PS3 e PS4 como *F. apiahynia s.l.* (Amalfi & Decock 2013). Desse modo, os referidos autores apresentam evidências de que o táxon é um complexo de espécies, podendo inclusive algumas ocorrerem de forma simpátrica em florestas no Equador e Guiana Francesa, como por exemplo, *Fomitiporia apiahynia sensu* Amalfi & Decock e *Fomitiporia* sp. PS3 .

Além disso, em outras famílias de fungos poliporóides, como *Polyporaceae* Fr. ex Corda, trabalhos como Nuñez & Ryvardeen (1995), Nuñez & Ryvardeen (2001) e Palacio *et al.*, (2016), vem demonstrando a existência de muitos complexos taxonômicos. O último trata de *Polyporus dictyopus* Mont. onde não somente novas espécies emergiram, mas um gênero novo (*Neodictyopus* Palacio, Robledo, Reck & Drechsler-Santos) dentro da família *Polyporaceae* foi proposto e outro gênero (*Atroporus* Ryvardeen) foi recuperado da sinonímia de *Polyporus* P. Micheli.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Fuscoporia gilva é uma espécie polifilética de distribuição pantropical que inclui vários grupos filogenéticos sendo assim um complexo de espécies. A revisão desses complexos taxonômicos a partir de uma abordagem que integre e reavalie morfologias e aspectos ecológicos (distribuição e substrato/hospedeiro) em um contexto filogenético é necessária para reorganizar os membros do grupo e dar um tratamento taxonômico de uma maneira menos artificial.

Revisões morfológicas de espécies-tipo, bem como obtenção de amostras de espécimes das localidades desses tipos para análises de DNA e definição de sequências de referência são necessárias para a continuidade da resolução do complexo *Fuscoporia gilva*.

Este trabalho corrobora a hipótese de que *F. gilva* é um complexo taxonômico, comprovando a existência de espécies filogenéticas sob seu conceito morfológico tradicional, cujas espécies são crípticas na medida em que apresentam variações e sobreposições de caracteres e estados de caráter que impedem uma determinação taxonômica macro ou micromorfológica precisa.

Também refuta a existência das variedades *F. gilva* var. *gilva*, *F. gilva* var. *licnoide* e *F. gilva* var. *scruposa* dentro do complexo *F. gilva*, e por consequência rejeita a hipótese que estas poderiam corresponder a espécies independentes. Portanto, confirma-se que os conceitos morfológicos que circunscrevem as variedades não se sustentam filogeneticamente como agrupamentos infraespecíficos naturais, já que essas morfologias se encontram distribuídas em diferentes clados da análise filogenética.

Em relação ao hábito ecológico, todos os espécimes analisados foram encontrados em árvores mortas, ou seja, todas as linhagens que obtivemos são saprófitos, decompositores de madeira.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abramoff, M.D., Magalhaes, P.J., Ram, S.J. "Image Processing with ImageJ". Biophotonics International, volume 11, issue 7, pp. 36-42, 2004.
- Alexopoulos C. J.; Mims C.W.; Blackwell M. (1996). Introductory Mycology. 2 ed. John Wiley, New York, 869 p.
- Amalfi M., Yombiyeni P., Decock C. (2010). *Fomitiporia* in sub-Saharan Africa: morphology and multigene phylogenetic analysis support three new species from the Guineo-Congolian rainforest. *Mycologia* 102(6): 1303-1317.
- Amalfi M., Raymundo T., Valenzuela R., Decock C. (2012). *Fomitiporia cupressicola* sp. nov., a parasite on *Cupressus arizonica*, and additional unnamed clades in the southern USA and northern Mexico, determined by multilocus phylogenetic analyses. *Mycologia* 104: 880–893.
- Amalfi M., Decock C. (2013) *Fomitiporia castilloi* sp. nov. and multiple clades around *F. apiahyna* and *F. texana* in Meso- and South America evidenced by multiloci phylogenetic inferences. *Mycologia* 105(4): 873-887. doi:10.3852/11-423.
- Baltazar J. M., Trierveiler-Pereira, L., Loguercio-Leite, C., & Ryvarden, L. (2009). Santa Catarina Island mangroves 3: a new species of *Fuscoporia*. *Mycologia*, 101(6), 859-863.
- Blackwell M. (2011). The Fungi: 1, 2, 3 ... 5.1 million species? *American Journal of Botany*, 98(3): 426–438.
- Badotti, F., de Oliveira, F. S., Garcia, C. F., Vaz, A. B. M., Fonseca, P. L. C., Nahum, L. A. & Góes-Neto, A. (2017). Effectiveness of ITS and sub-regions as DNA barcode markers for the identification of Basidiomycota (Fungi). *BMC microbiology*, 17(1), 42.
- Brazeo Nicholas J. (2015). Phylogenetic Relationships among Species of *Phellinus* sensu stricto, Cause of White Trunk Rot of Hardwoods, from Northern North America. *Forests*, v. 6, n. 11, p. 4191-4211.
- Campos Santana M. de, Amalfi M., Robledo G., Da Silveira R. M. B., & Decock C. (2014). *Fomitiporia neotropica*, a new species from South America evidenced by multilocus phylogenetic analyses. *Mycological progress*, 13(3), 601-615.
- Campos-Santana M., Robledo G., Decock C., & Da Silveira R. M. B. (2015). Diversity of the poroid *Hymenochaetaceae* (*Basidiomycota*) from the Atlantic Forest and Pampa in Southern Brazil. *Cryptogamie, Mycologie*, 36(1), 43-78.
- Corner E. J. H. (1991). *Polyporaceas*. VII. The Xantochroic Polypores. *Beihefte Zur Nova Hedwigia*, 101.
- Cunningham G. H., & Cunningham, G. H. (1965). *Polyporaceae* of New Zealand. Wellington: Department of Scientific and Industrial Research. (p. 304)
- Darriba, D., Taboada, G. L., Doallo, R., & Posada, D. (2012). jModelTest 2: more models, new heuristics and parallel computing. *Nature methods*, 9(8), 772.
- Dai Y. C. (1999). *Phellinus* sensu lato (*Aphylliphorales*, *Hymenochaetaceae*) in east Asia. Helsinki: Finn. Zool. a. Bot. Publ. Board.
- Dai Y. C. (2010). *Hymenochaetaceae* (*Basidiomycota*) in China. *Fungal Diversity*, 45(1), 131-343.
- Decock C; Figueroa S. H; Robledo G; Castillo G. (2007). *Fomitiporia punctata* (*Basidiomycota*, *Hymenochaetales*) and its presumed taxonomic synonyms in

- America: taxonomy and phylogeny of some species from tropical/subtropical areas. *Mycologia*, 99(5): 733–752.
- Dereeper A.*, Guignon V.*, Blanc G., Audic S., Buffet S., Chevenet F., Dufayard J.F., Guindon S., Lefort V., Lescot M., Claverie J.M., Gascuel O. Phylogeny.fr: robust phylogenetic analysis for the non-specialist. *Nucleic Acids Res.* 2008 Jul 1;36(Web Server issue):W465-9. Epub 2008 Apr 19. (PubMed)
- Dereeper A., Audic S., Claverie J.M., Blanc G. BLAST-EXPLORER helps you building datasets for phylogenetic analysis. *BMC Evol Biol.* 2010 Jan 12;10:8. (PubMed)
- Detinger B. T. M.; Margaritescu S.; Moncalvo J. M. (2010). Rapid and reliable high-throughput methods of DNA extraction for use in barcoding and molecular systematics of mushrooms. *Molecular Ecology Resources*, 10: 628-633.
- Doyle J. J; Doyle J. L. (1987). A rapid isolation procedure for small quantities of fresh tissue. *Phytochemical Bulletin*, 19:11-15.
- Drechsler-Santos E. R., Montoya C. A. S.; Alves-Silva G.; Fernandes M.; Reck M.; Palacio M.; Nunes P.; Elias S. G., Batistella D. A., Smiderle E. C.; Machiner M.; Barbosa G. C. K.; Barbosa F. R. (2015). Macrofungos: aspectos preliminares sobre *Basidiomycota*. Biodiversidade – Parque Estadual do Cristalino (MT). Áttema Editorial Pag 55:57-287
- Drechsler-Santos, E. R., Robledo, G. L., Lima-Junior, N. C., Malosso, E., Reck, M. A., Gibertoni, T. B., ... & Rajchenberg, M. (2016). *Phellinotus*, a new neotropical genus in the Hymenochaetaceae (Basidiomycota, Hymenochaetales). *Phytotaxa*, 261(3), 218-239.
- Fiasson, J. L. 1982. Distribution of styrylpyrones in the basidiocarps of various *Hymenochaetaceae*. *Biochemical Systematics and Ecology*, 10: 289-296.
- Fiasson J. L.; Niemelä T. (1984) The *Hymenochaetales*: a revision of the European poroid taxa. *Karstenia*, v. 24, p. 14-28.
- Fischer M. (1996) On the species complexes within *Phellinus*: *Fomitiporia* revisited. *Mycological Research* 100:1459–1467
- Fischer M., Binder M. (2004) Species recognition, geographic distribution, and host-pathogen relationships: a case study in a group of lignicolous *Basidiomycetes*, *Phellinus* s.l. *Mycologia* 96:799–811
- Fries E.M. (1828). *Elenchus Fungorum, sistens Commentarium in Systema Mycologicum* 1: i, 1–238: 104
- Gerber A. L.; Loguercio-Leite C. (1997). New records of polypores (*Aphylllophorales*) from southern Brazil. *Mycotaxon* (USA),.
- Ghobad-Nejhad M.; Dai Y. C. (2007). The genus *Phellinus* sl (*Basidiomycota*) in Iran. *Mycotaxon*, 101, 201-222.
- Gibertoni T. B.; Gomes-Silva A. C.; Chikowski R. S.; Lira C. R. S.; Soares A. M. S.; Melo G. S. N.; Araújo Neta L.; Gugliotta A. M.; Medeiros P. S.; Silva V. F.; Silveira, R. M. B.; Drechsler-Santos E. R.; Montoya, C. A. S. (2015). *Hymenochaetales*. In Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. (<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB92814>)
- Gilbertson R. L.; Burdsall Junior H. H. (1972). *Phellinus torulosus* in North America. *Mycologia*, p. 1258-1269.
- Gilbertson R. L. (1979). The genus *Phellinus* (*Aphylllophorales*: *Hymenochaetaceae*) in western North America [Fungi, *Phellinus sonorae*, new taxa, includes root rot and wood decay pathogens]. *Mycotaxon*,.
- 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(2): 19-32.
- Groposo C.; Loguercio-Leite C.; Goes-Neto A. (2007). *Fuscoporia* (*Basidiomycota*, *Hymenochaetales*) in Southern Brazil. *Mycotaxon*, v. 101, n. 1, p. 55-63.
- Group, C. P. W., Hollingsworth, P. M., Forrest, L. L., Spouge, J. L., Hajibabaei, M., Ratnasingham, S., ... & Fazekas, A. J. (2009). A DNA barcode for land plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106(31), 12794-12797.

- Guindon, S., & Gascuel, O. (2003). A simple, fast, and accurate algorithm to estimate large phylogenies by maximum likelihood. *Systematic biology*, 52(5), 696-704.
- Hawksworth D. L. (2004). Fungal Diversity and its implications for genetic resource collections. *Studies in Mycological*, 50: 9-18.
- Henderson D. M., Orton P. D., & Watling R. (1969). Flora of British Fungi Colour Identification Chart. British Fungus Flora Agarics and Boleti: Introduction. Edinburgh: Royal Botanic Garden Edinburgh, Her Majesty's Stationary Office.
- Hibbett D. S., Binder M. (2002). Evolution of complex fruiting-body morphologies in *Homobasidiomycetes*. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 269(1504), 1963-1969.
- Binder, M., & Hibbett, D. (2003). Oligonucleotides. AFTOL project.
- Huhndorf S. M.; Lodge D. J.; Wang C. J.; Stokland J. N. (2004). Macrofungi on woody substrata. Biodiversity of fungi: inventory and monitoring methods. *Elsevier Academic Press*: 159 – 163.
- Hymenochaetales* in Flora do Brasil 2020 em construção. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em:
<<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB92814>>. Acesso em: 04 Jul. 2016
- Insumran Y.; Klinhom U.; Pramual P. (2012). Variability of internal transcribed spacer ribosomal DNA sequences of *Fuscoporia gilva* and *Fuscoporia* sp. in Thailand. *Czech Mycology* 64(1): 55–64
- Jeong W. J., Lim Y. W., Lee J. S., & Jung H. S. (2005). Phylogeny of *Phellinus* and related genera inferred from combined data of ITS and mitochondrial SSU rDNA sequences. *Journal of microbiology and biotechnology*, 15(5), 1028.
- Larsen M. J.; Cobb-Poule L. A. (1990) *Phellinus* (*Hymenochaetaceae*): A survey of the world taxa. Oslo, Norway. *Fungiflora*. 206 p.
- Maia L. C., Carvalho Júnior A. A. de, Cavalcanti L. de H., Gugliotta A. de M., Drechsler-Santos E. R, et al. (2015). Diversity of Brazilian Fungi. *Rodriguésia*, 66(4), 1033-1045.
- Munsell Color Company (1975) Munsell soil color charts, 1975th edn. Munsell Color Co., Baltimore
- Murrill W. A., Burlingham G. S., Pennington L. H., Barnhart J. H. (1907). (*Agaricales*) *Polyporaceae* (pars). North American Flora. The New York Botanical Garden 1907-1916, v. 9. 552 p.
- Niemelä T., Wagner T., Fischer M., & Dai Y. C. (2001). *Phellopilus* gen. nov. and its affinities within *Phellinus* s. lato and *Inonotus* s. lato (*Basidiomycetes*). In *Annales Botanici Fennici*. Finnish Zoological and Botanical Publishing Board. p. 51-62.
- Núñez M, Ryvarde L. 1995. Polyporus (*Basidiomycotina*) and related genera. *Synop Fungorum* 10:1–85.
- Núñez M, Ryvarde L (2001) East Asian polypores. *Synop Fungorum* 14:170–522
- Palacio Pulgarín, Melissa et al. Estudos taxonômicos e filogenéticos do complexo *Polyporus dictyopus* Mont. (*Polyporaceae*, *Basidiomycota*). 2016.
- Pires R. M.; Motato-Vásquez V.; De Gugliotta A. M. (2015). *Fuscoporia atlantica* sp. nov., a new polypore from the Brazilian Atlantic Rainforest. *Mycotaxon*, v. 130, n. 3, p. 843-855.
- Posada D. (2008). ModelTest: phylogenetic model averaging. *Molecular Biology and Evolution*, 25:1253–1256.
- Puillandre, N., Lambert, A., Brouillet, S., & Achaz, G. (2012). ABGD, Automatic Barcode Gap Discovery for primary species delimitation. *Molecular ecology*, 21(8), 1864-1877.
- Rajchenberg M.; Pildain M. B. (2012). Molecular studies reveal a speciation process within *Ryvardenia cretacea* (*Polyporales*, *Basidiomycota*). *Kurtziana*, v. 37, n. 1, p. 7-13.
- Raymundo T., Valenzuela, R., Bautista-Hernández, S., Esqueda, M., Cifuentes, J., & Pacheco, L. (2013). El género *Fuscoporia* (*Hymenochaetales*, *Basidiomycota*) en México. *Revista mexicana de biodiversidad*, 84, S50-S69.
- Rogers, S. O. 1994. Phylogenetic and taxonomic information from herbarium and mummified DNA. In: Miller, J. S.; Golenberg, E. M. & Adams, J. E. (eds).

- Conservation of Plant Genes II: Utilization of Ancient and Modern DNA. Monographs in Systematic Botany 48, Missouri Botanical Garden, St. Louis, USA, p. 47-67.
- Ronquist F.; Huelsenbeck J. P. (2003). MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. *Bioinformatics*, 19:572-4.
- Ryvarden L.; Gilbertson, R. L. (1994). European polypores. Part 2. *Synopsis Fungorum*. 7:394-743
- Ryvarden L. (2004). Neotropical polypores: Part 1: Introduction, *Ganodermataceae* & *Hymenochaetaceae*. *Fungiflora*,.
- Ryvarden L.; Johansen I. (1980). A preliminary polypore flora of East Africa. *Synopsis Fungorum*, *Fungiflora*, 636 p.
- Sambrook, J., Fritsch, E. F., & Maniatis, T. (1989). *Molecular Cloning: A Laboratory Manual* (Ed. N., ed) Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- SILVA, Genivaldo Alves da et al. *Sistemática de Fomitiporia Murril (Hymenochaetaceae, Basidiomycota): contribuições taxonômicas ao conhecimento de espécies pileadas ocorrentes no Brasil*. 2016.
- Stielow, J. B., Lévesque, C. A., et al (2015). One fungus, which genes? Development and assessment of universal primers for potential secondary fungal DNA barcodes. *Persoonia: Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi*, 35, 242.
- Swofford D. L. (2002) PAUP* version 4.0 b10. Phylogenetic analysis using parsimony (* and other methods). Sinauer, Sunderland, MA.
- Taylor J. W., Jacobson D. J., Kroken S., Kasuga T., Geiser D. M., Hibbett D. S., & Fisher M. C. (2000). Phylogenetic species recognition and species concepts in fungi. *Fungal genetics and biology*, 31(1), 21-32.
- Teixeira A. R. (1995). Método para estudo das hifas do basidiocarpo de fungos poliporáceos. Manual nº 6. Instituto de Botânica, São Paulo..
- Vlasák J., Kout J. (2011) Pileate *Fomitiporia* species in the USA. New combinations *Fomitiporia calkinsii* and *F. bakeri*. *Mycol Prog* 10: 445-452.
- Vlasák J.; Kout J.; Ryvarden L. (2012) New records of polypores from southern Florida. *Mycotaxon*, v. 118, n. 1, p. 159-176.
- Wagner T.; Fischer M. (2001). Natural groups and a revised system for the European poroid *Hymenochaetales* (*Basidiomycota*) supported by nLSU rDNA sequence data. *Mycological Research* 105(7): 773-782.
- Wagner T.; Fischer M. (2002) Proceedings towards a natural classification of the worldwide taxa *Phellinus* sl and *Inonotus* sl, and phylogenetic relationships of allied genera. *Mycologia*, v. 94, n. 6, p. 998-1016.
- White, T. J., Bruns, T., Lee, S. J. W. T., & Taylor, J. W. (1990). Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. *PCR protocols: a guide to methods and applications*, 18(1), 315-322.
- Wright J. E.; Deschamps J. R.; Blumenfeld S. (1988) *Basidiomycetos xilófilos de la región mesopotámica IV: Espécie poroides de la familia Hymenochaetaceae* (Inédito).
- Zhang, J., Kapli, P., Pavlidis, P., & Stamatakis, A. (2013). A general species delimitation method with applications to phylogenetic placements. *Bioinformatics*, 29(22), 2869-2876.

8. ANEXOS

Anexo I

Protocolo§ otimizado para amplificar as regiões abaixo com DNA extraído de *Fuscoporia*, *Hymenochaetaceae* (extraído de basidioma)

LSU (volume de 25 µL)

Usar DNA à 1:100, configurações da PCR 1x (Água mileque autoclavada: 6 µL SM*: 13 µL; LR0R: 1 µL; LR7: 1 µL; 4,0 µL de DNA) utilizando as configurações de amplificação contida no Anexo VI como LSU.

TEF1- α (volume de 25 µL)

DNA à 1:20 e Água mileque autoclavada: 6 µL SM*: 13 µL, 983F: 1 µL; 2212R: 1 µL e amostra: 4,0 µL. (do DNA extraído já diluído) utilizando as configurações de amplificação contida no Anexo VI como TEF1- α .

ITS (volume de 25 µL)

DNA à 1:100 e Água mileque autoclavada: 6 µL SM*: 13 µL, ITS8F: 1 µL; ITS6R: 1 µL e amostra: 4,0 µL.

RPB2 (volume de 25 µL)

DNA à 1:20 e Água mileque autoclavada: 6 µL SM*: 13 µL, fRPB2-5F: 1 µL; bRPB2-7.1R: 1 µL e amostra: 4,0 µL.

Na ausência do Super Mix pode se utilizar as seguintes configurações:

Volume (1×)	Reagente	Concentração inicial	Concentração final
10,8 µL	Água mili-Q		
2,5 µL	Tampão	10×	1x
2,5 µL	dNTP mix	5 mM	50 µM
0,5 µL	Primer 1	10 pmol ou µM	0,2 µM
0,5 µL	Primer 2	10 pmol ou µM	0,2 µM
2,5 µL	BSA	1 µg/µL	0,1 µg
1,5 µL	MgCl ₂ , caso a Taq não o tenha	25 mM	1,5 mM
0,2 µL	Taq DNA polimerase	5 U/µL	1 U
4,0 µL	DNA	1:10 ou 1:20 (testar)	
25,0 µL final			

ANEXO II

Protocolo de Precipitação de DNA com PEG — Limpeza do Produto da PCR

1. Adicionar no mesmo tubo que saiu do termociclador (tubo de 0,2 mL) igual volume de PEG para volume de DNA (geralmente 24 µL) Lembrar sempre de limpar a ponteira no vidro de PEG, tirando o excesso do produto, pois é muito viscoso;

2. Incubar 30 min em banho-maria a 37°C (ou em termociclador);

3. Centrifugar 15 min a 12.000 rpm / 45min a 3700 rpm. Não se esquecer de organizar os tubos de uma forma que você saiba onde estaria o *pellet* (e.g. o lado da dobra da tampa voltado para fora);

4. Descartar o sobrenadante com pipeta programada para volume maior (e.g. 100 µl). A ponta da ponteira deve ir até o fundo do tubo do lado em que o *pellet* não estaria e sugar lentamente, aproveitando a tensão-coesão do pouco volume para retirar o máximo que conseguir. (Se seguiu a opção dada no passo 3, deve posicionar ao fundo do lado de abertura da tampa do *ependorf*);

5. Adicionar 125 µl de etanol 70% gelado;

6. Centrifugar 5 min a 12.000 rpm / 20-25 min a 3700 rpm;
7. Descartar todo o líquido virando no papel toalha, mas se ver que não está funcionando repita o passo 4;
8. Repetir limpeza com etanol e retirar sobrenadante (passos 5 a 7), descartar no papel toalha deve funcionar dessa vez;
9. Secar no banho seco por 30-60 min a 45°C, até que não haja vestígios de etanol;
10. Ressuspender em água Mili-Q (água ultrapura) com cerca de 10-15 µl, na geladeira em *overnight* ou a 45°-50°C no termociclador ou banho seco por 30min;
11. Analisar (1 µL) em gel de agarose junto com o marcador de massa molecular (DNA *ladder*) para estimar a quantidade de DNA.

Preparação do PEG 20%

Para 50 ml

- **10g** de polietileno glicol 8,000;
- **7,3 g** de NaCl (2,5M);
- Adicionar **40 mL** de água;
- Mexer com barra magnetica (“bailarina” ou “peixe”) em agitador magnético aquecido, deixando o PEG em solução (~20 min). Preencher até **50 mL**.

ANEXO III

LSU (~1h 37min)

95 °C 2 min Desnaturação inicial
 95 °C 30 s
 50 °C 30 s 30 ciclos
 72 °C 1 min
 72 °C 10 min Extensão final
 10 °C Resfriamento e acondicionamento até a retirada das amostras

ITS (~1h 34min)

95 °C 2 min Desnaturação inicial
 Etapa 1
 95 °C 30 s
 60 °C 30 s 5 ciclos
 72 °C 1 min
 Etapa 2
 95 °C 30 s
 55 °C 30 s 25 ciclos
 72 °C 1 min
 72 °C 10 min Extensão final

10 °C Resfriamento e acondicionamento até a retirada das amostras

TEF1-alpha (~2h 15min)

94 °C 2 min Desnaturação inicial
 Etapa 1 (temperatura decrescente) – **10 ciclos**
 94 °C 30 s
 66 °C 30 s inicial

57 °C 30 s final

72 °C 1 min

Etapa 2 – **36 ciclos**

94 °C 30 s

56 °C 30 s

72 °C 1 min

72 °C 10 min Extensão final

10 °C Resfriamento e acondicionamento até a retirada das amostras

RPB2 (~3h 45min)

94 °C 2 min Desnaturação inicial

Etapa 1 (temperatura decrescente) – **8 ciclos**

94 °C 40 s

60 °C 40 s inicial

53 °C 40 s final

72 °C 2 min

Etapa 2 – **36 ciclos**

94 °C 45 s

56 °C 1 min 30 s

72 °C 2 min

72 °C 10 min Extensão final

10 °C Resfriamento e acondicionamento até a retirada das amostras