



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO ACRE
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA,
INOVAÇÃO E TECNOLOGIA PARA A AMAZÔNIA –
CITA**

**DIVERSIDADE E ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DE
BASIDIOMICETOS AMAZÔNICOS**

GEYSE SOUZA SANTOS

RIO BRANCO - AC

2017



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO ACRE
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA,
INOVAÇÃO E TECNOLOGIA PARA A AMAZÔNIA –
CITA**

**DIVERSIDADE E ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DE
BASIDIOMICETOS AMAZÔNICOS**

GEYSE SOUZA SANTOS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciência, Inovação e Tecnologia para a Amazônia, da Universidade Federal do Acre, como requisito para obtenção do grau de **Mestre em Ciência e Inovação Tecnológica**.

Área de concentração: Ciência e Inovação Tecnológica.

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Clarice Maia Carvalho

RIO BRANCO - AC

2017

© SANTOS, G. S., 2017.

SANTOS, Geysel Souza. **Diversidade e atividade antibacteriana de basidiomicetos amazônicos**. Rio Branco: Universidade Federal do Acre, Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação, Programa de Pós-Graduação em Ciência, Inovação e Tecnologia para a Amazônia - CITA, 2017. 75f.

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da UFAC

S237r Santos, Geysel Souza, 1993-

Diversidade e atividade antibacteriana de basidiomicetos amazônicos / Geysel Souza Santos. -- Rio Branco: Universidade Federal do Acre, Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação, Programa de Pós-Graduação em Ciência, Inovação e Tecnologia para a Amazônia - CITA, 2017.

75f.; 30 cm.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência, Inovação e Tecnologia para a Amazônia da Universidade Federal do Acre, como requisito parcial para a obtenção do grau de *Mestre em Ciências e Inovação Tecnológica*. Área de concentração Ciência e Inovação Tecnológica.

Orientadora: Prof.^a Dra. Clarice Maia Carvalho

Inclui bibliografia

Agostinho Sousa Crb11-547

Rio Branco - Acre
2017

*À minha mãe que dedicou
sua vida em prol das suas filhas.
Aos meus familiares e amigos que
sempre acreditaram no meus sonhos.*

AGRADECIMENTOS

Muito feliz por ter chegado até aqui, e antes de agradecer a todas as pessoas que fizeram parte dessa longa caminhada, quero agradecer a Deus por ter me dado a oportunidade de viver todos os dias, e ter me dado coragem para nunca desistir dos meus sonhos.

Bem, vamos lá, sobretudo quero agradecer a minha querida orientadora Prof^ª Dr^ª Clarice Maia Carvalho, pela qual eu tenho um carinho especial, por ter me aceitado como orientanda, por toda a sua paciência de me ensinar os primeiros passos dentro do mestrado, por todo o seu conhecimento que foi me passado tanto nas partes teóricas, como nas práticas, a sua ajuda foi essencial para eu conseguir chegar até aqui, muito obrigada querida professora!!

Agradeço também a toda a equipe do laboratório de Microbiologia da UFAC, especialmente ao meu amigo Atilon que me ensinou a fazer meu primeiro BDA e que nunca me recusou ajuda, e também ao Ivan e Gleison Rafael por terem me ajudado nas minhas primeiras coletas. A professora Dra. Tatiana Gibertoni da UFPE, foi essencial neste trabalho, pois me recebeu de braços abertos e me ensinou as técnicas de identificação. Agradeço de coração.

As minhas amigas do mestrado Ana, Priscila e Bruna pelo bons momentos de muitas risadas e pelo companheirismo, as minhas amigas da graduação e aos amigos que fiz durante toda a trajetória da minha vida, sei que todos sempre torceram e torcem por mim, muito obrigada, vocês moram no meu coração!!

E por fim, e não menos importante agradeço a minha família, que é a minha base de sustentação, que me inspira a fazer sempre o melhor. E a pessoa que me ensinou e me criou para ser uma boa pessoa, minha mãe, meu exemplo de dignidade, humildade e trabalho. Te amo, mãe!

Agradeço também a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) por ter me concedido a bolsa por esses dois anos.

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi analisar a diversidade e atividade antibacteriana de fungos do Filo Basidiomycota de um fragmento de Floresta Amazônica. Foram coletados 168 indivíduos no Parque Zoobotânico da UFAC, desses, foram identificados 83 indivíduos, distribuídos em 6 ordens, 11 famílias, 30 gêneros e 56 espécies. A ordem mais representativa foi Agaricales (50%), as famílias que apresentaram maior quantidade de espécies foram Marasmiaceae (27,7%), Polyporaceae (26,5%), Ganodermataceae (10,8%) e Agariceae (9,6%). As espécies *Cotylidia aurantiaca*, *Cyclomyces iodinus*, *Dacryopinax sphaularia*, *Favolus tenuiculus*, *Hymenochaete damicornis*, *Leucocoprinus* cf. *fragilissimus*, *L. cretaceus*, *Marasmius* cf. *niveus*, *M. haematocephalus*, *M. griseoradiatus*, *Schizophyllum commune*, *Tetrapyrgus nigripes*, *Trogia cantharelloides*, e *Tyromyces* cf. *polyporoides*, foram relatadas como novas ocorrências para o estado do Acre. A diversidade foi analisada pelos índices de Shannon-Wiener (H'), Simpson e Evenness, os resultados foram 4,85, 1,00 (100%) e 0,95 (95%), respectivamente. Foram preparados 28 extratos etanólicos a partir dos basidiomas e testados contra as bactérias *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Klebsiella pneumoniae* por meio do teste de difusão em disco. Dos 28 extratos dos basidiomas, sete apresentaram atividade antibacteriana, as espécies responsáveis pela atividade foram identificadas como *Gloeporus thelephoroides*, *Favolus tenuiculus*, *Marasmius* sp. *Polyporus* cf. *grammocephalus*, *Pycnoporus sanguineus* e dois da ordem Agaricales. A bactéria Gram-positiva *S. aureus* foi a mais sensível aos extratos. Foram obtidos 32 extratos de metabólitos a partir dos basidiomicetos isolados e testados contra as mesmas bactérias. Dos 32 extratos de metabólitos, 14 apresentaram atividade antibacteriana. A espécie *Cymatoderma* sp. foi a que apresentou melhor atividade antibacteriana, dando atividade para três espécies bacterianas (*S. pneumoniae*, *S. aureus* e *K. pneumoniae*), seguida da espécie *Ganoderma* cf. *amazonense* que apresentou para duas bactérias (*S. aureus* e *K. pneumoniae*). A maior sensibilidade aos extratos foi apresentada pelas bactérias Gram-negativas, principalmente pelos extratos das espécies pertencentes a ordem Polyporales. O Parque Zoobotânico da UFAC, apresentou alta diversidade de espécies indicado pelo índice de Shannon, e a atividade antibacteriana dos extratos foi mais eficiente pelos indivíduos da ordem Polyporales.

Palavras-chave: Filo Basidiomycota, Amazônia, Polyporales

ABSTRACT

The objective of this work was to analyze the diversity and antibacterial activity of fungi of the Phylum Basidiomycota of a fragment of the Amazon rainforest. 168 individuals were collected in the Parque Zoobotânico da UFAC, of these, 83 were identified individuals, distributed in 6 orders, 11 families, 30 genera and 56 species. The most representative order was Agaricales (50%), families who presented a higher number of species were Marasmiaceae (27, 7%), Polyporaceae (26, 5%), Ganodermataceae (10, 8%) and Agariceae (9.6%). The species *Cotylidia aurantiaca*, *Cyclomyces iodinus*, *Dacryopinax sphaularia*, *Favolus tenuiculus*, *Hymenochaete damicornis*, *Leucocoprinus* cf. *fragilissimus*, *L. cretaceus*, *Marasmius* cf. *niveus*, *M. haematocephalus*, *M. griseoradiatus*, *Schizophyllum commune*, *Tetrapyrgus nigripes*, *Trogia cantharelloides*, and *Tyromyces* cf. *polyporoides*, were reported as new occurrences for the state of Acre. The diversity was analyzed by the Shannon-Wiener index (H'), Simpson and Evenness, the results were 4.85, 1.00 (100%) and 0.95 (95%), respectively. 28 etanólicos extracts were prepared from basidiomatas and tested against the bacteria *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* using the disk diffusion test. Of extracts from basidioma 28, seven showed antibacterial activity, the species responsible for the activity were identified as *Gloeporus thelephoroides*, *Favolus tenuiculus*, *Marasmius* sp, *Polyporus* cf. *grammocephalus*, *Pycnoporus sanguineus* and two of the order Agaricales. The Gram-positive bacteria *S. aureus* was the most sensitive to extracts. 32 metabolites extracts were obtained from Basidiomycetes isolated and tested against the same bacteria. Of the 32, 14 metabolites extracts showed antibacterial activity. *Cymatoderma* sp. species was presented the best antibacterial activity, giving activity to three bacterial species (*S. pneumoniae*, *S. aureus* and *K. pneumoniae*), followed by the species *Ganoderma* cf. *amazonense* presented to two bacteria (*S. aureus* and *K. pneumoniae*). The greater sensitivity to the extracts was presented by Gram-negative bacteria, mainly by extracts of the species belonging to order Polyporales. The Parque Zoobotânico of UFAC, presented high species diversity indicated by the Shannon index, and the antibacterial activity of extracts was more efficient by individuals in the order Polyporales.

Key-words: Phylum Basidiomycota, Amazon, Polyporales

LISTA DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Principais estruturas de um Basidiomiceto	14
Figura 2. Distribuição de Basidiomicetos coletados no Parque Zoobotânico da UFAC por ordem taxonômica	31
Figura 3. Novas ocorrências de espécies de basidiomicetos para o Estado do Acre	35

LISTA DE QUADROS E TABELAS

	Pág.
Tabela 1. Atividades biológicas por espécies de basidiomicetos	17
Tabela 2. Atividade antibacteriana produzidas por espécies de basidiomicetos..	19
Tabela 3. Três últimos antibióticos aprovados pela Food and Drug Administration (FDA) e inseridos no mercado	23
Tabela 4. Distribuição dos Basidiomicetos identificados por ordem, família, gênero e espécie e novas ocorrência para o estado do Acre	32
Tabela 5. Número de registro, identificação taxonômica e atividade antibacteriana de extratos etanólicos de basidiomicetos coletados no Parque Zoobotânico da UFAC	44
Tabela 6. Número de registro, identificação taxinômica e atividade antibacteriana de extratos metabólitos de basidiomicetos coletados no Parque Zoobotânico da UFAC	56

LISTA DE ABREVIATURAS

BDA	Batata Dextrose Ágar
DMSO	Dimetilsulfóxido
g	Gramma
mg	Miligramma
mL	Mililitro
mm	Milímetro
µL	Microlitro
PZ	Parque Zoobotânico

SUMÁRIO

	Pág.
1. INTRODUÇÃO GERAL	11
2. REVISÃO DE LITERATURA	14
2.1 Reino Fungi	14
2.2 Filo Basidiomycota	14
2.3 Compostos bioativos e atividades biológicas	17
2.3.1 Atividade antibacteriana	19
2.4 Bactérias patogênicas	20
2.4.1 <i>Escherichia coli</i>	20
2.4.2 <i>Klebsiella pneumoniae</i>	21
2.4.3 <i>Staphylococcus aureus</i>	21
2.4.4 <i>Streptococcus pneumoniae</i>	22
2.5 Resistência Bacteriana	22
CAPÍTULO I: Basidiomicetos do Parque Zoobotânico da Universidade Federal do Acre	26
INTRODUÇÃO	28
MATERIAL E MÉTODOS	29
Área de estudo.....	29
Coleta e identificação.....	30
Análise de diversidade.....	31
RESULTADOS E DISCUSSÃO	31
CONCLUSÕES	37
CAPÍTULO II: Atividade antibacteriana de extratos de basidiomas de Basidiomicetos do Parque Zoobotânico da UFAC	38
INTRODUÇÃO	40
MATERIAL E MÉTODOS	41
Coleta e identificação.....	41
Preparação dos extratos.....	42
Bioensaio da atividade antibacteriana.....	43
RESULTADOS E DISCUSSÃO	43
CONCLUSÕES	47
CAPÍTULO III: Atividade antibacteriana de extratos metabólitos de basidiomicetos amazônicos	48
INTRODUÇÃO	50
MATERIAL E MÉTODOS	51
Coleta e identificação.....	51
Isolamento dos basidiomicetos.....	52
Obtenção dos metabólitos secundários e preparação dos extratos	53

Bioensaio da atividade antibacteriana.....	54
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	54
Isolamento de Basidiomicetos.....	54
Atividade antibacteriana.....	55
CONCLUSÕES.....	59
3. CONCLUSÕES GERAIS	60
4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	61

1. INTRODUÇÃO GERAL

O Brasil destaca-se por sua grande diversidade fúngica, entretanto, há poucos estudos relacionados à descrição de basidiomicetos encontrados aqui, e menos pesquisas ainda sobre a produção de compostos bioativos a partir de basidiomicetos. Diante disso ainda há um grande potencial biotecnológico a ser explorado (BEKAI, 2010). Segundo Hawksworth (2004), os progressos na exploração geral de fungos são limitados em Florestas Tropicais, bem como a diversidade de Basidiomicetos presente nos ecossistemas brasileiros.

Na literatura podem ser encontrados trabalhos com a diversidade de basidiomicetos nas regiões Norte (SOUZA; AGUIAR, 2004; SILVA; GIBERTONI, 2009; ISHIKAWA et al., 2012; SOARES et al., 2014), Sul (SILVA et al., 2008; KARSTEDT; STURMER, 2008; PIRES, 2014), Sudeste (LOUVA; GUGLIOTTA, 2007; ABRAHÃO, 2009), Nordeste (NETO, 2010; COIMBRA, 2013) e Centro-Oeste (BONONI et al., 2008). O conhecimento da diversidade de basidiomicetos, especialmente na Amazônia, ainda é escasso, assim como trabalhos realizados com atividade antimicrobiana.

No entanto, trabalhos com a atividade antimicrobiana de basidiomicetos no Brasil vem sendo realizados há décadas (SMÂNIA et al., 1997; ISHIKAWA et al., 2001; WISBECK, et al., 2002; SMÂNIA, 2003; CARVALHO, et al., 2007; GODOY, 2008; BEKAI, 2010; SOUZA, 2009; VANDERLINDE; ONOFRE, 2010; RÉGIS, et al., 2012; AVIZ, 2013; SOUZA, et al., 2014).

As bactérias são as principais responsáveis pelas infecções associadas à saúde, sendo também propensas a resistência a diferentes antimicrobianos. A resistência dos microrganismos frente a esses antimicrobianos tem se tornado uma preocupação mundial, principalmente porque muitos desses microrganismos são causadores das infecções hospitalares

(THEURETZBACHER, 2013). Uma das medidas para remediar essa situação, é o desenvolvimento de novos antimicrobianos.

Os Recursos Naturais têm sido estudados nos últimos anos e entre estes, os basidiomicetos podem ser uma alternativa como fonte de novos antibióticos (ALVES et al., 2012b). Os basidiomicetos são fungos macroscópicos pertencentes ao Filo Basidiomycota, conhecidos popularmente como cogumelos ou orelha-de-pau, podendo variar quanto ao tamanho, forma e coloração, além de englobar espécies comestíveis e venenosas (GUGLIOTTA; CAPELARI, 1998).

Basidiomicetos têm sido amplamente utilizados como alimento durante séculos e têm sido apreciados pela sua textura e sabor, bem como várias propriedades medicinais, no entanto, o uso desses organismos como fonte de substâncias biológicas ativas com valor medicinal só surgiram recentemente (SMOLSKAITÈ et al., 2015). Estudos relataram que os metabólitos desses fungos podem produzir substâncias com atividade antitumoral (CHEN et al., 2010), antiviral (DUDKA et al., 2015), anti-inflamatória (CASTRO et al., 2014), antioxidante (REN et al., 2014), imunomoduladora (ENSHASY; KAUL, 2013) e antimicrobiana (HELENO et al., 2015), além de produzirem uma variedade de substâncias bioativas, incluindo polissacarídeos, ácidos graxos, compostos fenólicos, policetídeos, terpenos e esteróides (KALYONCU et al., 2010).

Portanto, os basidiomicetos por serem produtos naturais podem ser uma fonte de novos antimicrobianos capazes de inibir microrganismos que são resistentes aos antibióticos comuns (OYETAYO, 2009). Visto que a literatura relata poucas pesquisas com esses organismos na Amazônia brasileira, bem como no estado do Acre, este trabalho tem o propósito de analisar a diversidade e potencial antibacteriano de espécies de basidiomicetos de um fragmento da Floresta Amazônica.

Este trabalho foi dividido em três capítulos, cada capítulo representa um objetivo específico. O primeiro capítulo abordará sobre as espécies coletadas e identificadas no Parque Zoobotânico da UFAC, o segundo sobre a atividade antibacteriana dos extratos dos corpos de frutificação dos basidiomicetos e o terceiro capítulo sobre a atividade antibacteriana dos extratos de metabólitos dos basidiomicetos isolados.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Reino Fungi

O Reino Fungi compreende um vasto grupo de organismos caracterizados como heterótrofos com nutrição por absorção, imóveis e constituídos principalmente por longos filamentos, denominados hifas (TELLES, 2010; BLACKWELL et al., 2012). Estes organismos são amplamente distribuídos na natureza, podendo ser encontrados na água, no ar atmosférico, no solo, sobre animais e vegetais vivos, na matéria orgânica em decomposição, nos produtos alimentícios e produtos industriais (ANDRADE, 2011). Seu ciclo reprodutivo inclui formas assexuadas e sexuadas (BONONI; GRANDI, 1998).

No mundo, estão descritas aproximadamente 99.000 espécies de fungos (KIRK et al., 2008), e segundo Pires et al. (2014), dentre as espécies de fungos descritas, cerca de 13.800 existem no Brasil, ou seja, aproximadamente 14% da diversidade mundial.

Os fungos excretam uma variedade de enzimas que permite que esse grupo de organismos degrade e utilize quase todas as fontes de materiais orgânicos disponíveis na natureza, sendo essencialmente importantes para manutenção do equilíbrio ecológico (LIMA, 2009). Além disso, promovem a manutenção de ecossistemas, garantindo a ciclagem de nutrientes, disponibilizando-os aos vegetais, além de atuarem na decomposição da matéria orgânica (MARQUEZ et al., 2008; BARBOSA et al., 2009). O Reino Fungi é constituído pelos filos Chytridiomycota, Zygomycota, Ascomycota e Basidiomycota (BONONI; GRANDI, 1998).

2.2 Filo Basidiomycota

O Filo Basidiomycota representa um grande grupo de fungos macroscópicos com mais de 30.000 espécies, a maioria destes organismos são terrestres com esporos dispersos pelo vento, entretanto alguns podem habitar água doce ou marinha (WEBSTER; WEBER, 2007). São conhecidos popularmente como cogumelos e orelhas-de-pau, variam quanto à forma,

tamanho e coloração, incluindo espécies comestíveis e venenosas (GUGLIOTTA; CAPELARI, 1998).

As hifas destes fungos modificam-se originando pseudo-tecidos, os quais se diferem em píleo, estipe, lamelas, anel e volva (Figura 1) (OLIVEIRA, 2014).

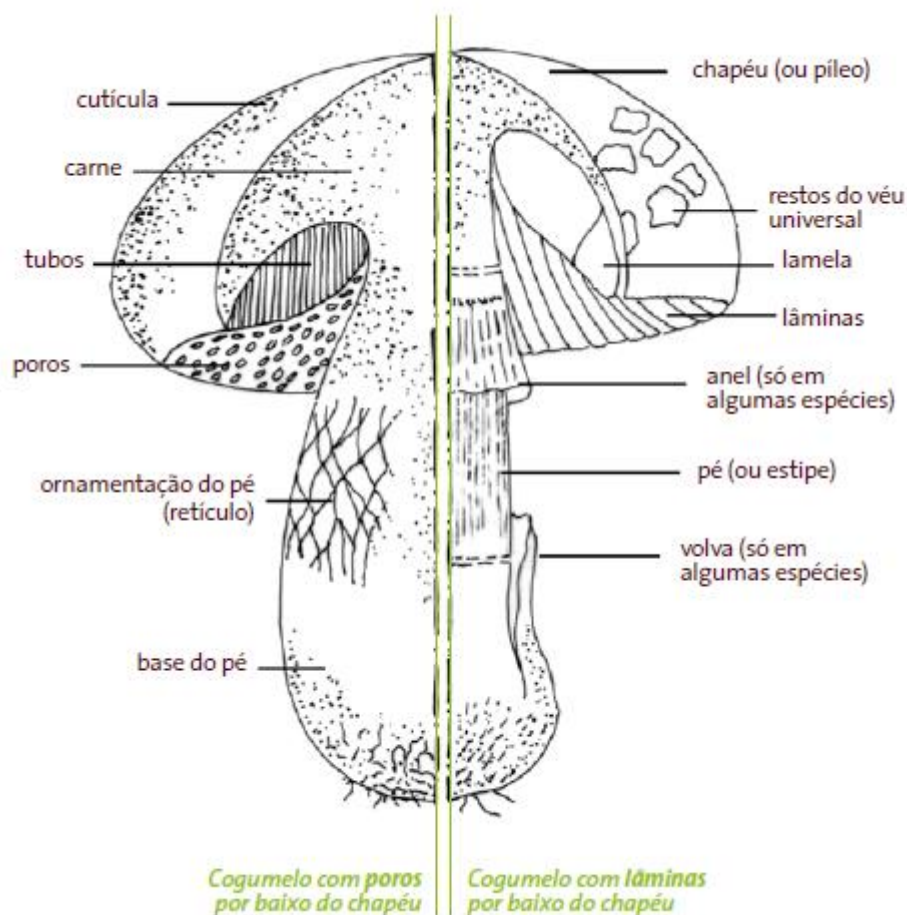


Figura 1. Principais estruturas de um Basidiomiceto.

Fonte: Guia do Colector de Cogumelos – para os cogumelos silvestres comestíveis com interesse comercial em Portugal (BAPTISTA-FERREIRA, 2013).

O basidioma ou corpo de frutificação é o local onde ocorre a reprodução sexuada, originando os esporos denominados basidiósporos (GUGLIOTTA; CAPELARI, 1998). Este grupo de fungos possuem dois tipos básicos de basidiósporos, os balistósporos que são liberados

violentamente dos basídios e se encontram numa linha himenial organizada e os estatimósporos, que são liberados passivamente (GUGLIOTTA; CAPELARI, 1998).

Os cogumelos desempenham há milênios um papel importante em vários aspectos da atividade humana, principalmente os cogumelos comestíveis, que são usados extensivamente na culinária e fazem parte de dietas de baixa caloria, sendo que os principais países consumidores fazem parte do Extremo Oriente, como Japão, China e Coreia (SMITH, 2002; ALVES, 2012a). A utilização dos cogumelos como alimento funcional tem aumentado nos últimos anos e seu consumo mundial vem crescendo em razão do seu valor nutritivo e da disponibilidade do mercado, o que torna o produto mais popular e acessível (DONINI et al., 2006). Entretanto, no Brasil o cogumelo ainda é considerado uma iguaria, em virtude da falta de hábito do consumidor, ao custo elevado e à pequena disponibilidade do produto no mercado (LEMOS, 2009). De acordo com Rai et al. (2005) de aproximadamente 15.000 espécies de cogumelos conhecidas, 2.000 são para o consumo humano e cerca de 650 possuem propriedades medicinais.

São considerados boa fonte de proteínas, com teor acima da maioria dos legumes e um pouco menos que a das carnes e leite. Com base no peso seco a quantidade de proteína pode variar de 10-40%, teor de carboidratos varia de 3-21%, o de fibras entre 3-35% e o de gorduras varia de 0,7-9,7% (SMITH, 2002; NOVAES, 2007).

A espécie *Agaricus brasiliensis* conhecida popularmente como cogumelo-do-sol, nativa do Brasil e cultivada comercialmente, tem chamado atenção mundialmente por ser um dos cogumelos que alcançam maior valor comercial no mercado (WASSER, 2002). Outras espécies cultivadas para fins alimentares são *Agaricus bisporus* (Champignon ou cogumelo de Paris), *Flammulina velutipes* (flamulina), *Lentinula edodes* (Shiitake), *Pleurotus ostreatus* (cogumelo ostra ou caetetuba) e *Volvariella volvacea* (cogumelo palha), sendo que a produção mundial

dessas espécies em 1994 foi de 4,9 milhões de toneladas (SMÂNIA, 2003). A partir da segunda metade do século XX, a produção de cogumelos teve um considerável crescimento no mundo e o valor de produção foi estimado em 18 bilhões de dólares (RAI et al., 2005).

2.3 Compostos bioativos e atividades biológicas

Os metabólitos secundários produzidos por esses organismos apresentam grande importância e são aplicados na indústria alimentícia, na biorremediação, e principalmente na indústria farmacêutica (WORRALL et al., 1997). Os basidiomicetos possuem uma variedade de substâncias bioativas, incluindo polissacarídeos, ácidos graxos, compostos fenólicos, policetídeos, terpenos e esteróides (KALYONCU et al., 2010). Compostos que apresentam diversas atividades biológicas, como atividades antitumoral (CHEN et al., 2010), antiviral (DUDKA et al., 2015; HWANG et al., 2015), anti-inflamatória (KO et al., 2008; CASTRO et al., 2014), antioxidante (THETSRIMUANG et al., 2011; REN et al., 2014), imunomoduladora (ENSHASY; KAUL, 2013), antimicrobiana (KALYONCU et al., 2010; REN et al., 2014; HELENO et al., 2015), antiparasitária (ADAMS et al., 2010) e ação sobre o sistema cardiovascular (GUILLAMÓN, 2010).

Vários produtos de cogumelos, vindo principalmente dos polissacarídeos em especial de β -glucanos, foram desenvolvidos para fins clínicos e comerciais, como o Krestin (PSK) e peptídeo de polissacarídeo (PSP) de *Trametes versicolor* (MAEHARA et al., 2012; CUI;CHISTI, 2003); Esquizopilana (Sonifilan, Sizofiran ou SPG) de *Schizophyllum commune* (ZHANG et al., 2013); Befungina de *Inonotus obliquus* e D-fração de *Grifola frondosa* (WASSER, 2010); fração de polissacarídeo (GLPS) de *Ganoderma lucidum* (XU et al., 2012).

A maioria das pesquisas encontradas na literatura está voltada para os cogumelos comestíveis, visando à obtenção de compostos bioativos para aplicações farmacológicas. O

fungo *Ganoderma lucidum*, conhecido na China como Ling Zhi e Reishi, é considerado um nutracêutico, com diversas atividades biológicas a partir de seus compostos bioativos. Este é rico em polissacarídeos e triterpenos (BISHOP et al., 2015) com atividades antitumoral (ZHANG et al., 2010), imunomoduladora (WANG et al., 2007), e anti-HIV (WANG et al., 2006), além de β -glucanos isolados desta espécie mostraram efeito contra radiação (PILLAI; DEVI, 2013).

Substâncias biologicamente ativas de basidiomicetos com ação anticancerígena compreendem principalmente polissacarídeos, complexos de polissacarídeos-proteína, fibras, esteróides, terpenos e fenóis (IVANOVA, 2014). Diferentes trabalhos mostrando a atividade biológica de basidiomicetos são encontrados na literatura (Tabela 1).

Tabela 1. Atividades biológicas de espécies de basidiomicetos.

Atividade biológica	Espécie	Autor
Anticancerígena	<i>Inonotus obliquos</i>	Park et al. (2005)
	<i>Lentinula edodes</i>	Zhang (2007)
	<i>Ganoderma lucidum</i>	Zhang et al. (2010)
	<i>Antrodia camphorata</i>	Yang et al. (2011)
	<i>Grifola frondosa</i>	Wasser (2014)
Antioxidante	<i>Lentinula edodes</i>	Kitzberger et al. (2007)
	<i>Morchella elata</i>	Kalyoncu et al. (2010)
	<i>Agaricus blazei</i>	Dbass et al. (2012)
	<i>Suillus bellinii</i>	Kalogeropoulos et al. (2013)
	<i>Pleurotus tuber-regium</i>	Wu et al. (2014)
Antiviral	<i>Inonotus hispidus</i>	Smolskaite et al. (2015)
	<i>Ganoderma pfeifferi</i>	Mothana et al. (2003)
	<i>Agaricus blazei</i>	Rosa et al. (2003)
	<i>Ganoderma lucidum</i>	Wang;Ng, (2006)
Anti-inflamatória	<i>Lentinula edodes</i>	Matsuhisa et al. (2015)
	<i>Pleurotus</i> spp.	Gregori et al. (2007)
	<i>Agaricus bisporus</i> var. <i>hortensis</i>	Komura et al. (2010)
Antiparasitária	<i>Carpia montagnei</i>	Castro et al. (2014).
	<i>Lentinula edodes</i>	Zhou et al. (2009)
	<i>Ganoderma lucidum</i>	Adams et al. (2010)

2.3.1 Atividade antibacteriana

A prevalência de doenças infecciosas continua a ser uma das principais ameaças à saúde humana, embora se tenha diversos antibióticos disponíveis para tratar microrganismos patogênicos, a resistência bacteriana é um crescente problema de saúde pública (KALYONCU et al., 2010). Esta situação forçou a pesquisa de novas substâncias antibióticas eficazes contra microrganismos patogênicos resistentes aos tratamentos convencionais (ALVES et al., 2012b). Alguns microrganismos tornaram-se resistentes a quase todos os antibióticos usados na clínica, podendo ser destacados estirpes de *Staphylococcus aureus* resistentes à meticilina, *Enterococcus* sp. resistentes à vancomicina e de *Mycobacterium tuberculosis* multiresistentes (BLANCO et al., 2009; MIGLIORI et al., 2009).

De acordo com Taylor (2013), o levantamento mais recente das fontes de drogas, indicou que os produtos naturais são responsáveis por mais de 75% dos 97 antibacterianos aprovados durante 1981-1996, destacando a importância contínua de produtos naturais como base de novas terapias para doenças infecciosas bacterianas. Muitos agentes antibacterianos foram isolados a partir de microfungos, como a penicilina e griseofulvina (REN et al., 2014). Entretanto, a rica diversidade de macrofungos oferece um grande potencial como fonte de novos antibióticos (YAMAÇ; BILGILI, 2006), podendo destacar os cogumelos como uma alternativa para a descoberta de novos antibióticos. Mais de 1.500 metabólitos fúngicos foram estudados entre os anos de 1993 e 2001 e 57% dos cogumelos já estudados contêm potentes substâncias antibióticas (STADLER; KELLER, 2008).

Em 1920 foi isolado um composto antifúngico e antibacteriano, denominado sparassol a partir da espécie *Sparassis crispa*, e desde então, vários compostos antifúngicos e antibacterianos têm sido isolados a partir de diferentes espécies de macrofungos (DEMIR; YAMAÇ, 2008).

No Brasil um estudo feito por Rosa et al. (2003) utilizou 103 isolados de 84 espécies de basidiomicetos, tendo sido observado atividade antimicrobiana em apenas 14% dos isolados. Sendo que a atividade antibacteriana foi mais frequente que a atividade antifúngica nas duas pesquisas. Alguns trabalhos com a atividade antibacteriana de basidiomicetos são mostrados na Tabela 2.

Tabela 2. Atividade antibacteriana produzidas por espécies de basidiomicetos.

Bactéria	Basidiomiceto	Autor
<i>Escherichia coli</i> <i>Klebsiella pneumoniae</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Streptococcus spp.</i>	<i>Pycnoporus sanguineus</i>	Smânia et al. (1995); (1997) Vanderlinde; Onofre (2010)
<i>Micrococcus luteus</i>	<i>Cerrena unicolor</i>	Demir; Yamaç, (2008)
<i>Enterococcus faecium</i> , <i>Bacillus cereus</i> <i>Micrococcus flavus</i>	<i>Agaricus spp.</i>	Ozturk et al. (2011)
<i>Escherichia coli</i> <i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Tricholoma giganteum</i>	Giri et al. (2012)
<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Cordyceps sinensis</i>	Ren et al. (2014)
<i>Escherichia coli</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Volvopluteus gloiocephalus</i> <i>Clitocybe subconnexa</i>	Heleno et al. (2015)

2.4 Bactérias patogênicas

2.4.1 *Escherichia coli*

Escherichia coli é uma bactéria Gram-negativa que coloniza trato gastrointestinal de seres humanos e animais, onde geralmente é uma comensal inofensiva e benéfica para o hospedeiro, pois ajuda na produção de vitaminas e participa da digestão dos alimentos (TORTORA et al., 2012; SHASHKOV et al., 2016).

Diversos clones de *E. coli* foram adquirindo fatores específicos de virulência, que aumentam a sua capacidade de adaptação à nova nichos e permitem causar um amplo espectro de doenças, como a diarreia, septicemia e infecção do trato urinário (STENUTZ et al., 2006;

SHASHKOV et al., 2016). Esta bactéria também é conhecida por produzir um largo espectro de β -lactamases, que ocasiona resistência a antimicrobianos (ALVES et al., 2012a; MARTIN et al., 2015).

Bactérias que produzem um largo espectro de β -lactamases são resistentes a penicilinas, cefalosporinas e monobactâmicos (FALGENHAUER et al., 2016). Esses genes de resistência são muitas vezes localizados em plasmídeos e são transferidos horizontalmente (HAWKEY; JONES, 2009). As β -lactamases do tipo CTX-M são as mais comuns, em particular a enzima CTX-M-15 tem uma distribuição a nível mundial e está frequentemente associada em casos de isolados de *E. coli* do tipo ST131 em humanos (NICOLAS-CHANOINE et al., 2014).

2.4.2 *Klebsiella pneumoniae*

Klebsiella pneumoniae é uma bactéria Gram-negativa comumente envolvida em infecções hospitalares, causando infecções no sistema urinário, pneumonia, bacteremia e septicemia (LOPES et al., 2016). As bactérias do gênero *Klebsiella* são comumente encontrados no solo e na água (TORTORA et al., 2012).

Segundo Paczosa e Meccas (2016), dois tipos principais de mecanismos de resistência a antibióticos foram observados em *K. pneumoniae*, um mecanismo envolve a expressão de um largo espectro de β -lactamases, tornando-as resistentes as cefalosporinas e monobactâmicos, enquanto que o outro mecanismo envolve a expressão de carbapenemases que as torna resistente a quase todos os β -lactâmicos disponíveis, incluindo os carbapenemos.

2.4.3 *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus é uma bactéria Gram-positiva que faz parte da microbiota normal da pele humana e mucosa, sendo a principal causa de infecções estafilocócicas em

hospitais (FIGUEIREDO; FERREIRA, 2014). Devido à sua capacidade de causar uma multiplicidade de infecções de pele, respiratórias e doenças transmitidas por alimentos, sendo considerada uma ameaça séria para a saúde humana (GUTIÉRREZ et al., 2016).

S. aureus produz muitas toxinas que contribuem para a sua patogenicidade, aumentando sua capacidade de invadir organismos e danificar tecidos e a capacidade de desenvolver rapidamente resistência a antibióticos como a penicilina (TORTORA et al., 2012). *S. aureus* resistente à meticilina causa mais de 100 mil infecções a cada ano e começou a se espalhar em infecções adquiridas na comunidade, deixando de ser hospitalar (BRITO; CORDEIRO, 2012).

2.4.4 *Streptococcus pneumoniae*

A bactéria *Streptococcus pneumoniae* é Gram-positiva, conhecida como pneumococo, sendo importante residente comensal da nasofaringe humana (LOVINO et al., 2016). *S. pneumoniae* pode se tornar invasivo e espalhar-se a partir do trato respiratório superior a outros órgãos, ocasionando doenças graves tais como pneumonia, meningite e otite média aguda (KADIOKLU et al., 2008; HENRIQUES-NORMARK; TUOMANEN, 2013; ZIELNIK-JURKIEWICZ; BIELICKA, 2016). Sua virulência deve-se, principalmente, à presença de uma cápsula polissacarídica (TORTORA et al., 2012).

2.5 Resistência Microbiana

A resistência microbiana refere-se a cepas de microrganismos que são capazes de se multiplicar em presença de concentrações de antimicrobianas mais altas que as doses terapêuticas dadas a humanos (WANNMACHER, 2004). O desenvolvimento de resistência geralmente é consequência do mau uso de antibióticos, que exerce pressão seletiva sobre microrganismos, combinado com práticas ineficazes de controle de infecção que aceleram a sua

propagação (PAPHITOU, 2013), além do processo natural de desenvolvimento de resistência microbiana (SANTOS, 2004).

A resistência adquirida pelas bactérias pode ocorrer por meio de dois mecanismos: mutação em um loco do cromossomo ou por transferência horizontal de genes, ou seja, por obtenção de genes de resistência vindos de outros microrganismos, ocorrendo principalmente através de transferência de plasmídios (DZIDIC et al., 2008). Os genes responsáveis pela resistência contidos em plasmídios, normalmente codificam enzimas que inativam os antibióticos ou reduzem a permeabilidade das células, diferente da resistência conferida por mutações cromossomais que envolve a modificação do alvo (BAPTISTA, 2013).

Por consequência disso, ocorrem vários mecanismos de resistência frente aos antimicrobianos, como bactérias que adquirem genes que codificam enzimas que destroem o agente antibacteriano antes que possa ter um efeito; bactérias que induzem a formação de bombas de efluxo que expulsam o agente antibacteriano da célula antes deste atingir o seu alvo e exercer o seu efeito; estas podem adquirir diversos genes de uma via metabólica que produzem paredes celulares bacterianas alteradas que não contêm o local de ligação do agente antimicrobiano (TENOVER, 2006). Com isso, as bactérias tornam-se as principais responsáveis pelas infecções associadas à saúde, sendo frequentemente também propensa a resistência a múltiplas drogas, mesmo fora dos serviços de saúde (THEURETZBACHER, 2013).

Um artigo publicado por Rice (2008) reportou alguns dos patógenos nos Estados Unidos que necessitam de novos fármacos urgentemente, como *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Acinetobacter baumannii*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* e espécies de *Enterobacter*.

No Brasil, segundo Neves et al. (2011), *Pseudomonas aeruginosa* é um dos principais agentes de infecção hospitalar, e a importância clínica da infecção causada por *P. aeruginosa*

caracteriza-se pela expressão de múltipla resistência a antibacterianos, associada a uma difícil erradicação da doença, conseqüentemente com elevados índices de morbidade e mortalidade. Outro gênero de bactéria comumente isolado em casos de infecção hospitalar, como pneumonia, infecção urinária e septicemia é *K. pneumoniae*, relacionada com altas taxas de morbimortalidade (MEYER et al., 1993).

Wannmacher (2004) listou algumas medidas que podem contribuir para evitar ou diminuir a resistência microbiana, entre estas, está o desenvolvimento de novos medicamentos. Com isso é importante ressaltar que não há novas classes de antibióticos sendo desenvolvidas para ajudar a eliminar ou diminuir a resistência dos microrganismos patógenos causadores de doenças infecciosas, sendo os três últimos antibióticos aprovados pela Food and Drug Administration (FDA) e inseridos no mercado apresentados na Tabela 4.

Tabela 4. Três últimos antibióticos aprovados pela Food and Drug Administration (FDA) e inseridos no mercado.

Antibiótico	Microrganismo	Ano de aprovação/Autor
Tebipenem pivoxil (Tienamicina)	<i>Streptomyces cattleya</i>	2009 (BUTLER; COOPER, 2011)
Ceftaroline fosamil (Cefasloporina)	<i>Cephalosporum acremonium</i>	2010 (MULLARD, 2011)
Fidaxomicina	<i>Dactylosporangium aurantiacum hamdenesis</i>	2011 (WRIGHT, 2012)

3. OBJETIVO

3.1 Geral

Analisar a riqueza e Atividade antibacteriana de fungos do Filo Basidiomycota de um fragmento de Floresta Amazônica.

3.2 Específicos

3.2.1 Analisar a riqueza de espécies de basidiomicetos que compõem o Parque Zoobotânico da Universidade Federal do Acre;

3.2.2 Verificar a atividade antibacteriana de extratos de basidiomas coletados no Parque Zoobotânico da Universidade Federal do Acre frente às bactérias patogênicas *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Escherichia coli* e *Klebsiella pneumoniae*;

3.2.3 Verificar atividade antibacteriana de extratos metabólicos de basidiomicetos isolados do Parque Zoobotânico da Universidade Federal do Acre frente às bactérias patogênicas *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Escherichia coli* e *Klebsiella pneumoniae*.

Capítulo I

**Basidiomicetos do Parque Zoobotânico da
Universidade Federal do Acre**

Capítulo I - Basidiomicetos do Parque Zoobotânico da Universidade Federal do Acre

RESUMO

Objetivo deste estudo foi analisar a riqueza de fungos de Filo Basidiomycota de um fragmento florestal Amazônico. As coletas foram realizadas no Parque Zoobotânico da Universidade Federal do Acre. Foram analisadas as características macroscópicas e microscópicas das espécies, e para a identificação foram utilizadas literaturas específicas. Para análise de diversidade foram usados os Índices de Shannon-Wiener (H'), Simpson e Eveness. Foram coletados 168 indivíduos, desse total foram identificados 83 indivíduos, distribuídos em 6 ordens, 11 famílias, 30 gêneros e 56 espécies. A ordem mais representativa foi Agaricales (50%), as famílias que apresentaram maior quantidade de espécies foram Marasmiaceae (27,7%), Polyporaceae (26,5%), Ganodermataceae (10,8%) e Agariceae (9,6%). Um total de 14 espécies (*Cotylidia aurantiaca*, *Cyclomyces iodinus*, *Dacryopinax sphaularia*, *Favolus tenuiculus*, *Hymenochaete damicornis*, *Leucocoprinus* cf. *fragilissimus*, *L. cretaceus*, *Marasmius* cf. *niveus*, *M. haematocephalus*, *M. griseoradiatus*, *Schizophyllum commune*, *Tetrapyrgus nigripes*, *Trogia cantharelloides*, e *Tyromyces* cf. *polyporoides*) foram consideradas como novas ocorrências para o Estado do Acre. Os índices de Shannon (H'), Simpson e Eveness foram de 4,85, 1,00 (100%) e 0,95 (95%), respectivamente. Esses resultados indicam que há uma alta diversidade, baixa dominância e alta equitabilidade na amostra estudada. Este estudo contribuiu para a ampliação do conhecimento da diversidade de Basidiomicetos encontrados na Amazônia Brasileira.

Palavras –chave: Amazônia, Basidiomicetos, Agaricales

ABSTRACT

Aim of this study was to analyze the richness of fungal Phylum Basidiomycota of an Amazonian forest fragment. The collections were made in the Parque Zoobotânico of Universidade Federal do Acre. The samples were analyzed the macroscopic and microscopic characteristics, and for the identification of species specific literatures were used. Diversity analysis were used the Shannon-Wiener index (H'), Simpson and Eveness. 168 individuals were collected, of 83 individuals were identified, distributed in 6 orders, 11 families, 30 genera and 56 species. The most representative order was Agaricales (50%), families who presented a higher number of species were Marasmiaceae (27, 7%), Polyporaceae (26, 5%), Ganodermataceae (10, 8%) and Agariceae (9.6%). A total of 14 species (*Cotylidia aurantiaca*, *Cyclomyces iodinus*, *Dacryopinax sphaularia*, *Favolus tenuiculus*, *Hymenochaete damicornis*, *Leucocoprinus* cf. *fragilissimus*, *L. cretaceus*, *Marasmius* cf. *niveus*, *M. haematocephalus*, *M. griseoradiatus*, *Schizophyllum commune*, *Tetrapyrgus nigripes*, *Trogia cantharelloides* and *Tyromyces* cf. *polyporoides*) were considered as new records for the State of Acre. The Shannon index (H'), Simpson and Eveness were 4.85, 1.00 (100%) and 0.95 (95%) respectively. These results indicate that there is a high diversity, low dominance and high equitability in the sample studied. Study contributed to the expansion of knowledge of the diversity of Basidiomycetes for Brazilian Amazonia.

Key-words: Amazonia, Basidiomycetes, Agaricales

INTRODUÇÃO

A diversidade mundial de fungos é grande, sendo estimado que este número seja em torno de 1,5 milhão de espécies, e destes, aproximadamente 99.000 espécies são conhecidas, sendo considerado um número ainda muito pequeno (KIRK et al., 2008; ROTHER; SILVEIRA 2008).

Evidências sugerem que a diversidade fúngica é maior em regiões tropicais do que em regiões temperadas (HAWKSWORTH, 2001). Trazendo para o contexto Amazônico, a Amazônia Brasileira tem um papel importante na conservação da biodiversidade, consistindo na maior extensão de floresta tropical úmida, caracterizada por uma alta riqueza de espécies e altos índices de endemismo (CAPOBIANCO et al., 2001).

Segundo Pires et al. (2014), dentre as espécies de fungos descritas, cerca de 13.800 existem no Brasil, ou seja, aproximadamente 14% da diversidade mundial. Dentro deste grupo de organismos, o Filo Basidiomycota representa um grande grupo de fungos macroscópicos com mais de 30.000 espécies (WEBSTER; WEBER, 2007).

A maioria das espécies são sapróbrias, possuindo relevante importância nos processos de reciclagem dos ecossistemas. Os basidiomicetos são os principais agentes de decomposição, particularmente importantes na degradação de lignina e ciclagem de celulose e hemicelulose, que juntas respondem por quase 70% de todo o material da parede celular das plantas (NETA, 2013).

Os fungos são muito estudados por apresentarem características ecológicas e biotecnológicas, principalmente por sua capacidade de secretar enzimas hidrolíticas (celulases, amilase, protease entre outras) e ligninolíticas (lacase, manganase, peroxidase e lignina peroxidase), as quais podem apresentar características potenciais para aplicação em diversos processos biotecnológicos (TUOMELA et al., 2000).

O conhecimento da diversidade de basidiomicetos em regiões tropicais, especialmente no Brasil, é ainda escasso. Na literatura são encontrados alguns trabalhos com a descrição de basidiomicetos nas regiões Norte (SOUZA; AGUIAR, 2004; SILVA; GIBERTONI, 2009; ISHIKAWA et al., 2012; SOARES et al., 2014), Sul (KARSTEDT; STURMER, 2008; SILVA, et al. 2008; PIRES, 2014), Sudeste (LOUZA; GUGLIOTTA, 2007; ABRAHÃO, 2009), Nordeste (NETO, 2010; COIMBRA, 2013) e Centro-Oeste (BONONI et al., 2008).

O conhecimento das espécies de basidiomicetos da Amazônia Brasileira são relatados por Souza e Aguiar (2004), Gomes-Silva e Gibertoni (2009), Gomes-Silva (2013) e Soares et al. (2014), sendo considerados poucos quando comparados com os estudos de outras regiões brasileiras. No estado do Acre, estudos sobre a diversidade de basidiomicetos da região são escassos, o primeiro estudo de levantamento de fungos macroscópicos foi realizado por Bononi (1992), no município de Rio Branco, seguido por Gomes-Silva (2013) e recentemente outro estudo apresentou novas ocorrências de Agaricales para o estado (ZAILO; SILVA, 2016).

Assim o objetivo desse trabalho foi analisar riqueza de espécies do Filo Basidiomycota em um fragmento de Floresta Amazônica de Rio Branco, Acre.

MATERIAL E MÉTODOS

Área de Estudo

As coletas foram realizadas no Parque Zoobotânico (PZ) (9°57'8"S - 67°52'25"W) localizado na Universidade Federal do Acre (UFAC). Este remanescente é um fragmento florestal urbano localizado no município de Rio Branco, Acre. O Parque Zoobotânico é uma área de conservação da UFAC onde são desenvolvidas várias pesquisas. O campus da UFAC está localizado no perímetro urbano do município Rio Branco (09°57'S - 67°57'W), distante 7 Km do centro da cidade, às margens da BR- 364, sentido Cruzeiro do Sul. A área do campus é de 292 hectares, dos quais 100 destes constituem o PZ. O PZ é limitado por alguns bairros e

pelo igarapé Dias Martins, sendo uma área de vegetação secundária que se encontra em vários estágios de regeneração desde 1980 (GUILHERME, 2001).

Coleta e Identificação

As coletas foram realizadas semanalmente, no período de junho – outubro de 2015 e janeiro – março de 2016. Os basidiomicetos foram coletados em trilhas pré-existentes do Parque Zoobotânico, onde o basidioma dos fungos foi retirado do substrato com auxílio de canivete e acondicionados em sacos de papel. Todos os exemplares foram fotografados, numerados e dados de campo, como o substrato, foram registrados no momento da coleta. Os basidiomas foram levados para o Laboratório de Microbiologia da UFAC, onde foi realizada a observação e análise das características macroscópicas. Feitas estas observações, foi realizada a confecção de exsicatas, sendo o material desidratado em estufa a 45 °C durante 24-48 horas (VARGAS-ISLA et al., 2014).

As características macroscópicas observadas dos indivíduos da ordem Polyporales foram cor, forma, consistência, posição no substrato, tamanho do basidioma e quantidade de poros por mm (RECK; SILVEIRA, 2008). Dos fungos da ordem Agaricales foram observadas enquanto frescos, píleo (coloração, forma, superfície e margem), estipe (coloração, posição e superfície) e lamelas (coloração e aspecto) (GIMENES, 2010).

Para observação das estruturas microscópicas, foram feitos cortes a mão livre nos basidiomas com lâmina de aço, os cortes foram colocados entre lâmina e lamínula com hidróxido de potássio a 3%, floxina 1%; azul de Amann para reação cianofilia e o reagente de Melzer, para se observar a reação amiloide ou dextrinoide das hifas, basidiósporos, e outras microestruturas (LARGENT, 1977; RYVARDEN, 1991; GUGLIOTTA; CAPELARI, 1998; GIMENES, 2010).

Para identificação taxinômica foram utilizadas bibliografias específicas (RYVARDEN; JOHANSEN, 1980; GILBERTSON; RYVARDEN, 1986; GILBERTSON; RYVARDEN, 1987; RYVARDEN, 1991, 2004, 2010, 2015; NUNEZ; RYVARDEN, 1995; PEGLER, 1983, 1997) e banco de dados Index Fungorum (<http://www.indexfungorum.org>) e Mycobank (<http://www.mycobank.org/>).

Análise da Diversidade

Para a análise da diversidade foram utilizados o Índice de diversidade de Shannon-Wiener (H'), calculado por meio da fórmula $H' = -\sum (p_i \cdot \ln p_i)$ onde p_i é a abundância relativa da espécie i na amostra, a diversidade tende a ser mais alta quanto maior o valor do índice. O Índice de Simpson, é um índice de dominância, calculado pela fórmula $D = 1 - \sum (p_i)^2$ onde p_i é frequência da espécie i . E o Índice de Evenness que indica a equitabilidade entre as espécies, calculado pela fórmula $E = H/\ln S$.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram coletados um total de 168 indivíduos no Parque Zoobotânico da UFAC. Estes foram classificados nas ordens Agaricales, Polyporales, Hymenochaetales, Auriculariales, Dacrymycetales e Geastrales (Figura 2).

A ordem Agaricales foi a que apresentou a maior quantidade de indivíduos representando 50% do total da amostra, seguida da ordem Polyporales representando 41%. A ordem Agaricales é o grupo de basidiomicetos mais estudado, sendo distribuídos em 413 gêneros, representando mais de 13 mil espécies conhecidas (KIRK et al., 2008).

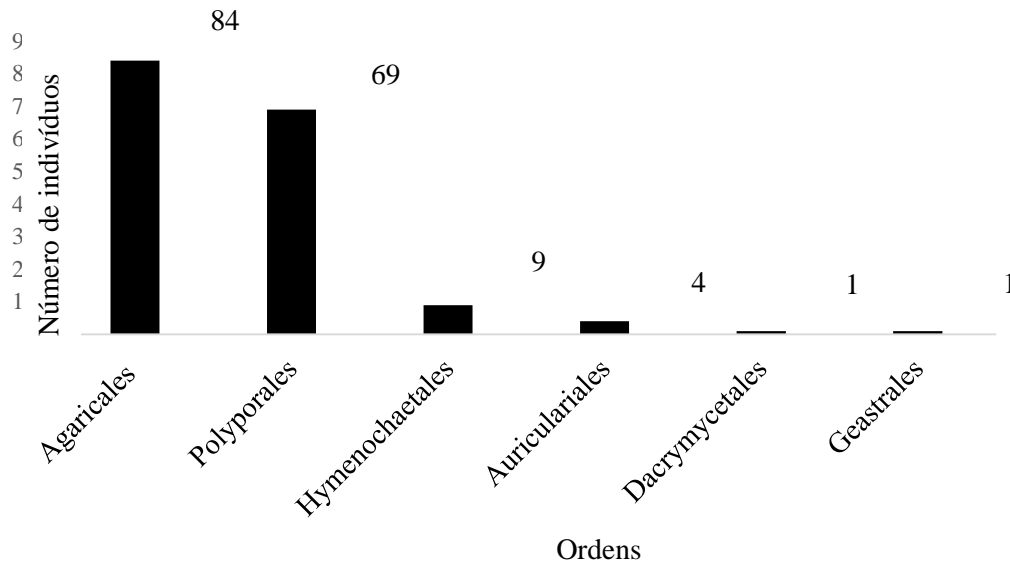


Figura 2. Distribuição dos Basidiomicetos coletados no Parque Zoobotânico da UFAC por ordem taxonômica.

Do total da amostra foram identificadas 83 indivíduos, distribuídas em 11 famílias, 30 gêneros e 56 espécies (Tabela 4). Entretanto, 85 indivíduos permaneceram com a identificação somente até nível de ordem taxonômica.

As famílias que apresentaram maior riqueza de espécies foram Marasmiaceae com 23 indivíduos (27,7%), representados por 6 gêneros e 17 espécies; Polyporaceae com 22 indivíduos (26,5%), representados por 9 gêneros e 11 espécies; Ganodermataceae com 9 indivíduos (10,8%), distribuídos em 2 gêneros e 9 espécies; e Agaricaceae com 8 indivíduos (9,6%), distribuídos em 4 gêneros e 6 espécies.

Um levantamento de Agaricales da Reserva Biológica Walter Egler localizada no estado do Amazonas, teve como resultado 39 espécies identificadas, distribuídas em seis famílias (SOUZA; AGUIAR, 2004). Neste trabalho a ordem Agaricales foi representada por 26 espécies, distribuídas em quatro famílias, sendo a família Agaricaceae comum nos dois trabalhos.

Estudo mais abrangente realizado na Amazônia, identificou 216 espécies, distribuídas em 90 gêneros, 22 famílias e 9 ordens (GOMES-SILVA; GIBERTONI, 2009). Dentre os basidiomicetos observados no trabalho de Gomes-Silva e Gibertoni (2009) e no presente trabalho, as ordens Agaricales, Auriculariales, Hymenochaetales e Polyporales, as famílias

Polyporaceae, Hymenochaetaceae e Schizophyllaceae, e os gêneros *Amauroderma*, *Phellinus*, *Trametes*, *Hymenochaete* e *Ganoderma* também foram encontradas no PZ da UFAC.

Em uma pesquisa com revisão de Herbários da Amazônia, foram identificadas 33 espécies pertencentes ao Herbário da UFAC, dentre estas, as espécies *Ganoderma amazonense*, *G. australe*, *Gloeporus thelephoroides*, *Polyporus grammocephalus* e *Pycnoporus sanguineus* coincidem com as espécies encontradas neste estudo (GOMES-SILVA, 2013).

O número de estudos realizados com a diversidade de fungos na Amazônia Brasileira são reduzidos quando comparados com outras regiões. Segundo Forzaa et al. (2010), o número de estudos de diversidade de fungos é maior nas regiões nordeste e sudeste, respectivamente, devido concentrarem grandes grupos de pesquisa. Desta forma, a riqueza de espécies de fungos é maior na região nordeste, abrigando cerca de 1.749 espécies, enquanto no norte há registros de apenas 743 espécies de fungos.

Tabela 4. Distribuição de Basidiomicetos identificados por ordem, família, gênero e espécie e novas ocorrência para o estado do Acre.

Espécies	Novas Ocorrências para o Estado do Acre
AGARICALES	
Agaricaceae	
<i>Agaricus</i> sp.	
<i>Leucoagaricus</i> sp.	
<i>Leucocoprinus</i> sp.1	
<i>Leucocoprinus</i> sp.2	
<i>Leucocoprinus</i> cf. <i>fragilissimus</i>	X
<i>L. cretaceus</i> (Bull.) Locq.	X
<i>Macrolepiota</i> sp.	
Marasmiaceae	
<i>Gerronema</i> sp.	
<i>Gymnopus</i> sp.1	
<i>Gymnopus</i> sp.2	
<i>Gymnopus</i> sp.3	
<i>Marasmiellus</i> sp.1	
<i>Marasmiellus</i> sp.2	
<i>Marasmiellus</i> sp.3	
<i>Marasmius</i> sp.1	
<i>Marasmius</i> sp.2	
<i>Marasmius</i> sp.3	
<i>Marasmius</i> sp.4	
<i>Marasmius</i> sp.5	
<i>Marasmius</i> cf. <i>niveus</i> Mont.	X

<i>Marasmius haematocephalus</i> (Mont.) Fr.	X
<i>M. griseoradiatus</i> Desjardin & Ovrebo	X
<i>Tetrapyrgus nigripes</i> (Fr.) E. Horak	X
<i>Trogia cantharelloides</i> (Mont.) Pat	X
Psathyrellaceae	
<i>Psathyrella</i> sp.	
Schizophylaceae	
<i>Schizophyllum commune</i> Fr.	X
<hr/>	
AURICULARIALES	
Auriculariaceae	
<i>Auricularia</i> sp.1	
<i>Auricularia</i> sp.2	
<i>Auricularia</i> sp.3	
<i>Auricularia</i> sp.4	
<hr/>	
DACRYMYCETALES	
Dacrymycetaceae	
<i>Dacryopinax spathularia</i> (Shwein.) G.W. Martin	X
<hr/>	
GEASTRALES	
Geastraceae	
<i>Geastrum</i> sp.	
<hr/>	
HYMENOCHAETALES	
Hymenochaetaceae	
<i>Cyclomyces iodinus</i> (Mont.) Pat.	
<i>Hymenochaete damicornis</i> (Link) Lév.	
<i>Phellinus gilvus</i> (Shwein.) Pat.	
Rickenellaceae	
<i>Cotylidia aurantiaca</i> (Pat.) A. L. Welden	X
<hr/>	
POLYPORALES	
Ganodermataceae	
<i>Amauroderma</i> sp.1	
<i>Amauroderma</i> sp.2	
<i>Amauroderma</i> sp.3	
<i>Ganoderma</i> sp.1	
<i>Ganoderma</i> sp.2	
<i>Ganoderma</i> sp.3	
<i>Ganoderma</i> sp.4	
<i>Ganoderma</i> cf. <i>amazonense</i>	
<i>G. australe</i> (Fr.) Pat.	
Polyporaceae	
<i>Corioloopsis caperata</i> (Berk.) Murril	
<i>Cymatoderma</i> sp.	
<i>Favolus</i> sp.1	
<i>Favolus</i> sp.2	
<i>Favolus tenuiculus</i> P. Beauv.	X
<i>Gloeporus theleporoides</i> (Hook.) G. Cunn.	
<i>Lentinus</i> sp.	
<i>Polyporus</i> cf. <i>grammocephalus</i> Berk.	
<i>Pycnoporus sanguineus</i> (Fr.) Murr.	
<i>Trametes modesta</i> (Kunze ex Fr.) Ryvarden	
<i>Tyromyces</i> cf. <i>polyporoides</i> Ryvarden & Iturr.	X

No trabalho de levantamento de fungos macroscópicos realizado no Estado do Acre por Bononi (1992), foram identificadas 40 espécies, enquanto neste trabalho foram identificadas 56 espécies. Os gêneros em comuns com o trabalho de Bononi (1992) foram *Agaricus*, *Amauroderma*, *Coriolopsis*, *Favolus*, *Marasmius*, *Polyporus* e *Trametes*, já as espécies em comum foram *Phellinus gilvus*, *Coriolopsis caperata* e *Trametes modesta*. No trabalho mais recente de levantamento de Agaricales do Acre foram observados os gêneros *Leucocoprinus*, *Macrolepiota* e *Tetrapyrgos*, também observadas neste estudo (ZAILO; SILVA, 2016).

As espécies *Leucocoprinus* cf. *fragilissimus*, *L. cretaceus*, *Marasmius* cf. *niveus*, *M. haematocephalus*, *M. griseoradiatus*, *Tetrapyrgus nigripes*, *Trogia cantharelloides*, *Schizophyllum commune*, *Dacryopinax sphaularia*, *Cotylidia aurantiaca*, *Favolus tenuiculus*, e *Tyromyces* cf. *polyporoides* estão sendo relatadas pela primeira vez para a região, sendo assim caracterizadas como novas ocorrências para o Estado do Acre (Figura 3).

A espécie *Tyromyces* cf. *polyporoides*, possivelmente é uma nova ocorrência para o Brasil, tendo sido descrita por Ryvar den e Iturriaga (2003) como uma espécie nova para a Venezuela. Além disso a espécie coletada no PZ pode ser uma nova espécie, no entanto, ainda é necessário a análise molecular para a confirmação. Com isso, é importante ressaltar que os estudos realizados com a diversidade de fungos na Amazônia Brasileira são necessários para estender o conhecimento para essa região, possibilitando registros de novas ocorrências, visto que ainda existem poucos estudos com esta finalidade.



Leucocoprinus cf.
fragilissimus



Leucocoprinus cretaceus



Marasmius cf. *niveus*



Marasmius haematocephalus



M. griseoradiatus



Tetrapyrgus nigripes



Trogia cantharelloides



Schizophillum commune



Dacriopinax sputularia



Cotylidia aurantiaca



Favolus tenuiculus



Tyromyces cf. *polyporoides*

Figura 3. Novas ocorrências de espécies de basidiomicetos para o Estado do Acre.

O valor do Índice de Shannon (H') foi de 4,85 estimando uma alta diversidade, pois quanto maior o valor de H' maior será a diversidade da amostra em questão. Já o Índice de Simpson foi de 1,00 (100%), esse valor sugere que existe heterogeneidade, pois não há dominância de nenhuma espécie na amostra estudada. Enquanto que o valor do Índice de Evenness foi de 0,95 (95%) que também indica alta riqueza de espécies, sugerindo a existência alta equitabilidade, ou seja, os indivíduos são distribuídos de forma uniforme entre as espécies.

CONCLUSÕES

O Parque Zoobotânico da Universidade Federal do Acre possui alta diversidade de espécies do Filo Basidiomycota, entretanto, é necessário a continuidade desta pesquisa para identificar as espécies que permaneceram sem identificação, assim como novas pesquisas nessa área. Desta forma, contribuindo para a ampliação do conhecimento acerca das espécies de macrofungos ocorrentes nesta região.

Capítulo II

**Atividade antibacteriana de extratos de
basidiomas de Basidiomicetos do Parque
Zoobotânico da UFAC**

Capítulo II - Atividade antibacteriana de extratos de basidiomas de Basidiomicetos do Parque Zoobotânico da UFAC

RESUMO

Os basidiomicetos apresentam várias propriedades medicinais relacionadas com seus compostos bioativos. Estudos de atividades biológicas realizados com basidiomicetos amazônicos, são escassos. Assim, o objetivo deste trabalho foi analisar a atividade antibacteriana de extratos etanólicos do corpo de frutificação de basidiomicetos amazônicos. Os extratos foram preparados a partir do basidioma de 28 basidiomicetos. Para a preparação dos extratos do corpo de frutificação, foram pesados 1 g de cada amostra, e extraída por maceração com etanol por 24 h. A atividade antibacteriana foi testada por meio do teste de difusão em disco, contra as bactérias *Streptococcus pneumoniae* (ATCC 11733), *Staphylococcus aureus* (ATCC 12598), *Escherichia coli* (ATCC 10536) e *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 700603). Sete extratos apresentaram atividade antibacteriana, as espécies responsáveis pela atividade foram identificadas como *Gloeporus thelephoroides*, *Favolus tenuiculus*, *Marasmius* sp. *Polyporus* cf. *grammocephalus*, *Pycnoporus sanguineus* e dois da ordem Agaricales. A bactéria Gram-positiva *S. aureus* foi a mais sensível aos extratos, enquanto que a Gram-negativa *K. pneumoniae* foi a mais resistente. Esses dados complementam outros trabalhos realizados com basidiomicetos e contribuem para espécies ainda não relatadas para atividade antibacteriana, como o caso de *F. tenuiculus*.

Palavras-chave: Basidiomicetos amazônicos, extrato etanólico, *Favolus tenuiculus*

ABSTRACT

Basidiomycetes have several medicinal properties related to their bioactive compounds. Studies of biological activities performed with amazonian basidiomycetes are scarce. Thus, the objective of this work was to analyze the antibacterial activity of ethanolic extracts from basidioma of amazonian basidiomycetes. Ethanolic extracts were prepared from the basidioma of 28 basidiomycetes. For this purpose, 1 g of each specimen were weighed and extracted by maceration with ethanol for 24 h. The antibacterial activity was tested by the disc diffusion test against the bacteria *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*. Seven extracts presented antibacterial activity, identified as *Gloeporus thelephoroides*, *Favolus tenuiculus*, *Marasmius* sp., *Polyporus* cf. *grammocephalus*, *Pycnoporus sanguineus* and two from Agaricales order. The Gram-positive bacteria *S. aureus* was the most sensitive to the extracts, while the Gram-negative *K. pneumoniae* was the most resistant. These data complement other works performed with basidiomycetes and bring the first report of antibacterial activity of *F. tenuiculus*.

Key-words: Amazonian Basidiomycetes, ethanolic extract, *Favolus tenuiculus*

INTRODUÇÃO

Basidiomicetos são fungos macroscópicos que têm sido amplamente utilizados como alimento durante séculos e são apreciados pela sua textura e sabor, bem como várias propriedades medicinais, no entanto, o uso desses organismos como fonte de substâncias biológicas ativas com valor medicinal só surgiram recentemente (SMOLSKAITÈ et al., 2015). De acordo com Rai et al. (2005), de aproximadamente 15.000 espécies de cogumelos conhecidas, 2.000 são para o consumo humano e cerca de 650 possuem propriedades medicinais.

Apesar do Brasil destacar-se por sua grande diversidade fúngica, há poucos estudos relacionados à descrição de basidiomicetos encontrados no país, e menos pesquisas ainda sobre a produção de compostos bioativos a partir de basidiomicetos, por isso ainda há um grande potencial biotecnológico a ser explorado (BEKAI, 2010). Segundo Hawksworth (2004), tem havido progressos limitados na exploração geral de fungos em florestas tropicais, bem como a diversidade do Filo Basidiomycota presente nos ecossistemas brasileiros, que podem ser uma fonte de diferentes metabólitos bioativos.

Os estudos demonstram que os metabólitos de basidiomicetos podem produzir substâncias com atividade antitumoral (CHEN et al., 2010), antiviral (DUDKA et al., 2015), anti-inflamatória (CASTRO et al., 2014), antioxidante (REN et al., 2014), imunomoduladora (ENSHASY; KAUL, 2013) e antimicrobiana (HELENO et al., 2015). Trabalhos com a atividade antimicrobiana de basidiomicetos no Brasil vêm sendo realizados há décadas (SMÂNIA, et al., 1995; ISHIKAWA, et al., 2001; WISBECK, et al., 2002; SMÂNIA, 2003; CARVALHO, et al., 2007; GODOY, 2008; BEKAI, 2010; SOUZA, 2009; VANDERLINDE; ONOFRE, 2010; RÉGIS, et al., 2012; AVIZ, 2013; SOUZA, et al., 2014).

Em relação aos estudos realizados na Amazônia brasileira com a atividade antimicrobiana de basidiomicetos, poucos trabalhos são encontrados na literatura, podendo ser

relatado o realizado por Athayde (2011) onde avaliou a citotoxicidade e atividade antimicrobiana de duas cepas da espécie *Pycnoporus sanguineus* oriundas da Amazônia, e Oliveira (2014) que avaliou a atividade antimicrobiana de oito basidiomicetos isolados de Manaus e Boa Vista.

Muitas drogas antimicrobianas em uso clínico foram isoladas e desenvolvidas a partir de microfungos ou de actinomicetos, tais como penicilina, cefalosporina e griseofulvina, enquanto que a ocorrência de substâncias antimicrobianas em cogumelos é menos bem documentada para a descoberta de novos antibióticos com diferentes tipos estruturais (YAMAÇ; BILGILI, 2006).

Entretanto, as doenças infecciosas continuam a ser uma das principais ameaças à saúde humana, e apesar de diversos antibióticos disponíveis para tratar microrganismos patogênicos, a resistência bacteriana é um crescente problema de saúde pública (KALYONCU et al., 2010). Esta situação forçou a pesquisa de novas substâncias antibióticas eficazes contra microrganismos patogênicos resistentes aos tratamentos convencionais (ALVES et al., 2012b). Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi analisar a atividade antibacteriana de extratos etanólicos do basidioma de basidiomicetos amazônicos.

MATERIAL E MÉTODOS

Coleta e identificação

Os basidioma foram coletados no Parque Zoobotânico (PZ) (9°57'8"S - 67°52'25"W) localizado na Universidade Federal do Acre (UFAC). A coleta, a preservação e a herborização dos basidiomas seguiram as recomendações de Gugliotta e Capelari (1998), Gimenes (2010) e Vargas-Isla et al. (2014).

Para identificação dos basidiomicetos foram observadas as características macroscópicas e microscópicas. Para as espécimes da ordem Polyporales foram observadas as características cor, forma, consistência, tamanho do basidioma e quantidade de poros por mm

(RECK; SILVEIRA, 2008). Para ordem Agaricales foram observadas enquanto frescos, píleo (coloração, forma, superfície e margem), estipe (coloração, posição e superfície) e lamelas (coloração e aspecto) (GIMENES, 2010).

Para observação das estruturas microscópicas, foram feitos cortes a mão livre com lâmina de aço nos basidiomas, os cortes foram colocados entre lâmina e lamínula com Hidróxido de potássio a 3%, floxina 1%; azul de Amann para reação cianofilia e o reagente de Melzer, para se observar a reação amiloide ou dextrinoide das hifas, basidiósporos, e outras microestruturas (LARGENT, 1977; RYVARDEN, 1991; GUGLIOTTA; CAPELARI, 1998). Para identificação foram utilizados os trabalhos de Ryvardeen e Johansen (1980), Gilbertson e Ryvardeen (1986, 1987), Ryvardeen (1991, 2004, 2010, 2015), Nunez e Ryvardeen (1995), Pegler (1983) e banco de dados Index Fungorum (<http://www.indexfungorum.org>) e Mycobank (<http://www.mycobank.org/>)

Preparação dos extratos

Foram selecionados os basidiomicetos que pesavam 1 g, sendo assim selecionados 28 morfoespécies de basidiomicetos. Estes foram triturados e submetidos a extração por maceração com etanol por 24 h, sendo esta etapa repetida três vezes (ATHAYDE, 2011). Após maceração, as amostras foram filtradas e secas a 37 °C, calculados os rendimentos dos extratos, e estes dissolvidos em Dimetilsulfóxido (DMSO), na concentração de 20 mg mL⁻¹.

Bioensaio da atividade antibacteriana

A atividade antimicrobiana foi realizada pelo teste de difusão em disco, de acordo com a NCCLS 2003. Foram utilizados como microrganismos teste as bactérias *Staphylococcus*

aureus (ATCC 12598), *Streptococcus pneumoniae* (ATCC 11733), *Escherichia coli* (ATCC 10536) e *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 700603).

Primeiramente foi obtido o inóculo bacteriano, onde foram selecionadas de três a cinco colônias bacterianas, bem isoladas, do mesmo tipo morfológico de cultura de cada um desses microrganismos bacterianos em placa de Petri com meio ágar Müller-Hinton (MH). Cada colônia foi tocada com uma alça e transferida para tubos contendo 4 mL de meio líquido Luria-Bertani (LB) e incubadas a 37 °C durante 4-6 horas.

Inicialmente, foi padronizada as culturas em caldo LB em crescimento ativo com solução salina esterilizada, de modo a obter uma turbidez óptica comparável à da solução padrão de 0,5 da escala de McFarland. Por meio de um swab esterilizado introduzido na suspensão bacteriana padronizada, os inóculos foram semeados em placas de Petri contendo o meio de cultivo Agar MH, em três direções diferentes.

Para a realização do ensaio, discos de papel esterilizado foram colocados sobre a superfície do meio Ágar Müller-Hinton com os microrganismos inoculados e sobre estes 20 µL do extrato fúngico. As placas foram incubadas a 37 °C durante 18 horas e posteriormente realizada a leitura dos halos de inibição com auxílio de régua de antibiograma e medido em milímetros. Os resultados foram registrados considerando-se os valores médios das três repetições.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dos 28 extratos etanólicos obtidos, sete (25%) apresentaram atividade antibacteriana, apresentando halos que variaram de 9 – 20 mm (Tabela 5).

A maior atividade foi observada contra as bactérias Gram-positivas, principalmente *S. aureus* que se mostrou mais sensível, visto que quatro extratos inibiram seu crescimento, e a bactéria Gram-negativa *K. pneumoniae* apresentou-se a mais resistente, sendo sensível apenas a um extrato. Outros trabalhos também relatam atividade antibacteriana de basidiomicetos com maior frequência para Gram-positivas (OZTURK et al., 2011; NOWACKA et al., 2015). As diferenças nas estruturas da parede celular das bactérias Gram-negativas em relação as Gram-positivas, podem ser uma das razões para maior resistência das Gram-negativas, já que a parede celular de bactérias Gram-negativas é mais complexa, e tem um papel de barreira difusional, proporcionando uma maior resistência a substâncias antimicrobianas (DUFFY; POWER, 2001; KLAUS et al., 2015).

A morfoespécie 5.169 (Agaricales) apresentou atividade tanto para bactéria Gram-positiva, quanto para bactéria Gram-negativa. A ordem Agaricales é representada pelos cogumelos, conhecidos por apresentarem diversas atividades biológicas (WASSER, 2014). Corroborando com estes resultados, fungos da ordem Agaricales também apresentaram esta atividade, os cogumelos *Volvopluteus gloiocephalus*, *Clitocybe subconnexa* (HELENO et al., 2015) e *Lactarius deliciosus*, *Macrolepiota procera* (KOSANIC et al., 2016) mostraram atividade contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas.

Marasmius também mostrou atividade contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas. Duas espécies de *Marasmius* mostraram atividade contra a bactéria Gram negativa *E. coli* (ROSA et al., 2003), com resultados semelhantes observados neste trabalho. Foi isolado um antibiótico de espécies de *Marasmius* encontradas em regiões tropicais, com atividade contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas (FABIAN et al., 1999). Além da atividade antibacteriana, também são relatadas diversas atividades biológicas para *Marasmius*, como atividade antidepressiva (SONG et al., 2016), antioxidante e anti-inflamatória (VAMANU; NITA 2014).

Tabela 5. Número de registro, identificação taxonômica e atividade antibacteriana de extratos etanólicos de basidiomicetos coletados no Parque Zoobotânico da UFAC.

Número de registro	Identificação Taxonômica	Bactéria			
		<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
5.107	Agaricales				
5.132	Agaricales				
5.158	Agaricales				
5.167	Agaricales			+	
5.169	Agaricales	+		+	
5.112	<i>Amauroderma sp.</i>				
5.48	<i>Corioloopsis caperata</i>				
5.49	<i>Corioloopsis caperata</i>				
5.115	<i>Cotylidia aurantiaca</i>				
5.153	<i>Cotylidia aurantiaca</i>				
5.38	<i>Favolus sp.</i>				
5.78	<i>Favolus sp.</i>				
5.89	<i>Favolus tenuiculus</i>	+			
5.32	<i>Gloeporus theleporoides</i>				
5.44	<i>Gloeporus theleporoides</i>				
5.46	<i>Gloeporus theleporoides</i>	++	++		
5.102	<i>Hymenochaete damicornis</i>				
5.54	<i>Lentinus sp.</i>				
4.162	<i>Marasmius sp.</i>	+		+	
5.28	Polyporales				
5.45	Polyporales				
5.50	Polyporales				
5.52	Polyporales				
5.60	Polyporales				
5.113	Polyporales				
5.130	<i>Polyporus cf. grammocephalus</i>				++
5.56	<i>Pycnoporus sanguineus</i>		+++		
5.1	<i>Trametes modesta</i>				

+: <10 mm, ++: 10-15 mm, +++: 15-20 mm

O extrato do basidioma da espécie *G. theleporoides* apresentou atividade antibacteriana contra as duas bactérias gram-positivas testadas, semelhante aos resultados de Rosa et al. (2003) que também observou atividade antibacteriana do extrato do basidioma deste fungo contra *Bacillus cereus*, bactéria gram-positiva.

O extrato do basidiomiceto *Polyporus cf. grammocephalus* foi o único que inibiu o crescimento de *K. pneumoniae*. Giri et al. (2012) também observou essa especificidade, o extrato metanólico de *Polyporus grammocephalus* apresentou atividade contra as bactérias Gram-negativas *E. coli* e *Pseudomonas aeruginosa*.

O gênero *Polyporus* também foi relatado por apresentar atividade contra a bactéria Gram-positiva *S. aureus* (SUAY et al., 2000; DEMIR; YAMAÇ, 2008), além de atividade antioxidante (RAI, et al., 2007).

A espécie *Pycnoporus sanguineus* mostrou o maior halo de inibição (20mm) contra *S. pneumoniae*. *P. sanguineus* também apresentou essa atividade em trabalhos anteriores, sendo este mais eficiente contra bactérias Gram-positivas que Gram-negativas (SMÂNIA et al., 1997; SMÂNIA, 2003; VANDERLINDE; ONOFRE, 2010; ATHAYDE, 2011). Esta espécie produz o metabólito secundário, chamado poliporina, um composto ativo contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas e sem toxicidade para animais experimentais (BOSE, 1946), e a cinabarina, que é conhecido por ter várias atividades biológicas incluindo atividade antimicrobiana (SMÂNIA, 1995; SMÂNIA et al., 1997; SMÂNIA, 2003). *P. sanguineus* também é relatado por apresentar atividade antioxidante (AL-FATIMI et a., 2013).

O extrato do basidioma de *Favolus tenuiculus* inibiu *S. aureus*, sendo este o primeiro relato sobre a atividade antibacteriana para esta espécie.

As distintas espécies de basidiomicetos possuem diferentes compostos e em diferentes concentrações, o que pode contar para o diferencial efeito antimicrobiano. Espécies que possuem um largo espectro de atividade antimicrobiana pode ser atribuído à presença de

metabólitos de vários tipos químicos, como sesquiterpenos, terpenos, esteroides, antraquinonas, ácidos benzoicos, quinolonas, ácido oxálico, polissacarídeos e proteínas (AKYUZ; KIRGAB, 2009; ALVES et al., 2012a; KOLUNDZIC et al., 2015; TAOFIQ et al., 2016). Entretanto, é necessário compreender que os extratos são misturas de compostos naturais, e a atividade antimicrobiana pode não ser resultado de atividade de compostos individuais, mas sim resultado de suas interações, que podem ter diferentes efeitos sobre a atividade do extrato de forma geral (KOSANIC et al., 2016).

CONCLUSÕES

Estudos visando o isolamento e identificação dos compostos ativos de extratos mais promissores divulgados nesta pesquisa, são necessários. Este trabalho é a primeira investigação do potencial antibacteriano de basidiomicetos Amazônicos e pode servir para estimular a investigação desta rica fonte de metabólitos secundários bioativos.

Capítulo III

**Atividade antibacteriana de extratos
metabólitos de basidiomicetos amazônicos**

Capítulo III - Atividade antibacteriana de extratos metabólitos de basidiomicetos amazônicos

RESUMO

Os basidiomicetos são conhecidos por apresentarem diversas atividades biológicas, devido produzirem uma variedade substâncias bioativas. Diante disso, o objetivo desse trabalho foi analisar a atividade antibacteriana de extratos dos metabólitos de basidiomicetos coletados na região Amazônica. Os basidiomicetos foram coletados no Parque Zoobotânico da UFAC e isolados em meio de cultivo Batata-dextrose-ágar (BDA). Foram obtidas extratos dos metabólitos das culturas puras, utilizando acetato de etila como solvente. Os extratos foram testados contra as bactérias *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Klebsiella pneumoniae* utilizando o teste de difusão em disco. Foram coletados um total de 168 indivíduos, destas foram isoladas 32 (19%), sendo assim obtidos 32 extratos de metabólitos. Dos 32 extratos, 14 apresentaram atividade antibacteriana. A espécie *Cymatoderma* sp. foi a que apresentou melhor atividade antibacteriana, dando atividade para três espécies bacterianas (*S. pneumoniae*, *S. aureus* e *K. pneumoniae*), seguida da espécie *Ganoderma* cf. *amazonense* que apresentou para duas bactérias (*S. aureus* e *K. pneumoniae*). A maior sensibilidade aos extratos foi apresentada pelas bactérias Gram-negativas, principalmente pelos extratos das espécies pertencentes a ordem Polyporales, constatando o potencial antibacteriano para esse grupo de fungos.

Palavras-chave: Atividade biológica, Amazônia, Polyporales

ABSTRACT

The Basidiomycetes are known for presenting various biological activities, due to produce a variety of bioactive compounds. Given this, the objective of this work was to analyze the antibacterial activity of extracts from Basidiomycetes metabolites collected in the Amazon region. The Basidiomycetes were collected in the Parque Zoobotânico of UFAC and isolated in medium Potato-dextrose-agar (BDA). Extracts were obtained of the metabolites of pure cultures, using ethyl acetate as a solvent. The extracts were tested against the bacteria *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* (ATCC 10536) and *Klebsiella pneumoniae* using the disk diffusion test. We collected a total of 168 individuals, these were isolated 32 (19%), thus obtained 32 extracts of metabolites. Of the 32, 14 extracts showed antibacterial activity. *Cymatoderma* sp. species was presented the best activity, giving activity to three bacterial species (*S. pneumoniae*, *S. aureus* and *K. pneumoniae*), followed by the species *Ganoderma* cf. *amazonense* presented to two bacteria (*S. aureus* and *K. pneumoniae*). The greater sensitivity to the extracts was presented by gram-negative bacteria, primarily by extracts of the species belonging to order Polyporales, noting the antibacterial potential for this group of fungi.

Keywords: biological activity, Amazon, Polyporales

INTRODUÇÃO

Os fungos tem grande relevância na medicina, pois produzem uma ampla variedade de substâncias bioativas através de seus metabólitos secundários, com alto potencial farmacológico (STADLER; KELLER, 2008). Deste grupo de organismos, destacam-se os basidiomicetos, que são fungos macroscópicos conhecidos popularmente como cogumelos ou orelha-de-pau (GUGLIOTTA; CAPELARI, 1998).

Os metabólitos secundários produzidos por basidiomicetos apresentam grande importância e são aplicados principalmente na indústria farmacêutica (WORRALL et al., 1997). Esses metabólitos caracterizam-se pela grande diversidade de estrutura química e conferem uma vantagem seletiva ao organismo produtor (STADLER; KELLER, 2008). Vários produtos de cogumelos, vindo principalmente de polissacarídeos, especialmente dos β -glucanos, foram desenvolvidos para fins clínicos e comerciais, como o Krestin (PSK) e peptídeo de polissacarídeo (PSP) de *Trametes versicolor* (MAEHARA et al., 2012; CUI; CHISTI, 2003); Esquizopilana (Sonifilan, Sizofiran ou SPG) de *Schizophyllum commune* (ZHANG et al., 2013); Befungina de *Inonotus obliquus* e D-fração de *Grifola frondosa* (WASSER, 2010); fração de polissacarídeo (GLPS) de *Ganoderma lucidum* (XU et al., 2012).

Muitos agentes antibacterianos foram isolados a partir de microfungos, como a penicilina e griseofulvina (REN et al., 2014). Entretanto, a rica diversidade de macrofungos oferece um grande potencial como fonte de novos antibióticos (YAMAÇ; BILGILI, 2006), e entre estes, os basidiomicetos podem ser uma alternativa para novas descobertas. Estima-se que existam cerca de 140.000 espécies de cogumelos distribuídas pelo mundo, e destes, 22.000 são conhecidos e apenas 5% foram investigados, além disso, 57% dos cogumelos já estudados contêm potentes substâncias antibióticas (STADLER; KELLER, 2008; ALVES et al., 2012a).

Estudos mostram que os basidiomicetos possuem a capacidade de produzir uma grande variedade de metabólitos secundários com alto valor terapêutico, dentre essa variedade de

metabólitos, incluem polissacarídeos, ácidos graxos, compostos fenólicos, policetídeos, terpenos e esteróides (KALYONCU et al., 2010). Sendo que essas substâncias bioativas podem apresentar diferentes atividades biológicas benéficas á saúde, tais como antioxidante (REN et al., 2014), antimicrobiana (HELENO et al., 2015), anticancerígena (TSAI et al., 2013), antiviral (HWANG et al., 2015), anti-inflamatória (CASTRO et al., 2014), imunomoduladora (ENSHASY; KAUL, 2013) e antiparasitária (ADAMS et al., 2010).

Frente à crescente necessidade de novos agentes antimicrobianos, devido doenças infecciosas continuarem sendo uma das principais ameaças à saúde humana e a resistência bacteriana ser um crescente problema de saúde pública (KALYONCU et al, 2010), o objetivo deste trabalho foi analisar a atividade antibacteriana de extratos de metabólitos de basidiomicetos amazônicos.

MATERIAL E MÉTODOS

Coleta e identificação

Foram coletados 168 basidiomicetos no Parque Zoobotânico (PZ) (9°57'8"S - 67°52'25"W) da Universidade Federal do Acre (UFAC).

Para identificação dos basidiomicetos foram observadas as características macroscópicas e microscópicas. Para as espécimes da ordem Polyporales foram observadas as características cor, forma, consistência, tamanho do basidioma e quantidade de poros por mm (RECK; SILVEIRA, 2008). Para ordem Agaricales foram observadas enquanto frescos, píleo (coloração, forma, superfície e margem), estipe (coloração, posição e superfície) e lamelas (coloração e aspecto) (GIMENES, 2010).

Para observação das estruturas microscópicas, foram feitos cortes a mão livre com lâmina de aço nos basidiomas, os cortes foram colocados entre lâmina e lamínula com Hidróxido de potássio a 3%, floxina 1%; azul de Amann para reação cianofilia e o reagente de

Melzer, para se observar a reação amiloide ou dextrinoide das hifas, basidiósporos, e outras microestruturas (LARGENT, 1977; RYVARDEN, 1991; GUGLIOTTA; CAPELARI, 1998).

Para identificação foram utilizados os trabalhos de Ryvar den e Johansen (1980), Gilbertson e Ryvar den (1986, 1987), Ryvar den (1991, 2004, 2010, 2015), Nunez e Ryvar den (1995), Pegler (1983) e banco de dados Index Fungorum (<http://www.indexfungorum.org>) e Mycobank (<http://www.mycobank.org/>)

Isolamento dos basidiomicetos

Para o isolamento, foi retirado um fragmento do basidioma e em câmara de fluxo laminar, foi submetido ao processo de desinfecção superficial pela imersão por um minuto e meio em etanol 70%, três minutos e meio em hipoclorito 2,5%, trinta segundos em etanol 70%, seguido por duas lavagens em água destilada estéril. Após a desinfecção, esse fragmento foi cortado em cinco fragmentos de aproximadamente 5 mm², e transferidos para placas de Petri contendo meio Batata-Dextrose-Agar-BDA (infusão de 200g de batata, 20g de Dextrose, 15g de Ágar, 1000 mL de água destilada) acrescido do antibiótico cloranfenicol 100 µg mL⁻¹, a fim de evitar o crescimento de bactérias.

Obtenção dos metabólitos secundários e preparação dos extratos

Para obtenção dos metabólitos secundários, os fungos isolados foram crescidos em placa de Petri contendo meio de cultura BDA por 14 dias a 28 °C, e posteriormente, dez fragmentos medindo 5 mm² foram depositados em frascos Erlenmeyer contendo 20 mL de meio Batata-Dextrose-BD, incubados a 28 °C sem agitação por 14 dias. Após incubação, realizou-se a filtração, com a finalidade de separar o micélio do meio líquido contendo os metabólitos, e 2 mL do filtrado foram extraídos com o solvente acetato de etila por partição líquido-líquido, a fase orgânica foi coletada e seca a 37 °C (OLIVEIRA, 2014).

Para a realização da atividade antimicrobiana, os extratos fúngicos foram solubilizados em 400 µL de Dimetilsulfóxido (DMSO).

Bioensaio da atividade antibacteriana

A atividade antibacteriana foi realizada pelo teste de difusão em disco, utilizando como microrganismos testes as bactérias *Staphylococcus aureus* (ATCC 12598), *Streptococcus pneumoniae* (ATCC 11733), *Escherichia coli* (ATCC 10536), *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 700603).

Primeiramente foi obtido o inóculo bacteriano, onde foram selecionadas de três a cinco colônias bacterianas, bem isoladas, do mesmo tipo morfológico de cultura de cada um desses microrganismos bacterianos em placa de Petri com meio ágar Müller-Hinton (MH). Cada colônia foi tocada com uma alça e transferida para tubos contendo 4 mL de meio líquido Luria-Bertani (LB) e incubadas a 37 °C durante 4-6 horas.

Inicialmente, foi padronizada as culturas em caldo LB em crescimento ativo com solução salina esterilizada, de modo a obter uma turbidez óptica comparável à da solução padrão de 0,5 da escala de McFarland. Por meio de um swab esterilizado introduzido na suspensão bacteriana padronizada, os inóculos foram semeados em placas de Petri contendo o meio de cultivo Agar MH, em três direções diferentes.

Para a realização do ensaio, discos de papel esterilizado foram colocados sobre a superfície do meio Ágar Müller-Hinton com os microrganismos inoculados e sobre estes 20 µL do extrato fúngico. As placas foram incubadas a 37 °C durante 18 horas e posteriormente realizada a leitura dos halos de inibição com auxílio de régua de antibiograma e medido em milímetros. Os resultados foram registrados considerando-se os valores médios das três repetições.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Isolamento de Basidiomicetos

Dos 168 basidiomicetos processados, apenas 32 espécimes foram isoladas, representando 19% do total. A baixa quantidade de isolados ocorreu principalmente devido à contaminação com outros fungos ambientais. Os principais fungos contaminantes nos isolamentos de basidiomicetos foram *Xylaria* sp., com maior frequência, e *Trichoderma* sp.

Fungos do gênero *Xylaria* pertencem ao Filo Ascomycota, e são organismos saprófitos, conhecidos principalmente por terem um papel de decomposição de madeira morta (OSONO et al., 2011), sendo isolados também como fungos endofíticos (HAMMERSCHMIDT et al., 2015; MAHA et al., 2016). Não há relatos na literatura sobre o tipo de interação entre *Xylaria* sp. e espécies de basidiomicetos, mas que provavelmente pode ser uma relação de simbiose, visto que os dois organismos habitam o mesmo ambiente e compartilham substratos, além de possuírem a mesma função de decomposição na natureza (WEBSTER; WEBER, 2007).

Trichoderma sp. são fungos de vida livre altamente interativos em ambientes de solo, raiz e folhas de plantas, estes fungos também colonizam materiais lenhosos, mas são frequentemente isolados como fungos de solo, além disso, podem parasitar uma gama de outros fungos, através de enzimas que degradam as células da parede celular, como por exemplo a exoquitinase extracelular (HARMAN et al., 2004).

Outros trabalhos também relatam a dificuldade para obtenção de culturas puras de basidiomiceto. Foram coletados 34 basidiomicetos da Região Amazônica com potencial alimentar, destes foram isolados apenas 11% (NASCIMENTO et al., 2011). De 97 indivíduos coletadas também na região Amazônica, foi possível o isolamento em culturas puras de 19% (CHAVES et al., 2013). Na Mata Atlântica, foram coletados 260 indivíduos, onde foi possível obter 11% de isolados (NETO, 2010). Outro estudo, coletou um total de 295 indivíduos, destes 12 foram escolhidos para o isolamento, sendo que 33% foram isolados (ABRAHÃO, 2009).

É importante ressaltar que os estudos apresentados, utilizaram diferentes métodos para o processo de desinfecção do basidioma. A metodologia utilizada neste trabalho para a desinfecção, foi aperfeiçoada baseada nas literaturas pesquisadas. Ainda assim, é necessário elaborar um protocolo de isolamento para basidiomicetos, a fim de evitar contaminações por outros fungos, para se alcançar maior sucesso no isolamento.

Atividade Antibacteriana

Foram obtidos 32 extratos de metabólitos fúngicos, destes, 14 (43,8%) apresentaram atividade antibacteriana a pelo menos uma das bactérias analisadas, com médias do halo de inibição que variaram entre 9-11 mm (Tabela 6).

Os basidiomicetos da ordem Polyporales tiveram maior quantidade de espécies com atividade antibacteriana. A espécie *Cymatoderma* sp. apresentou atividade contra três espécies bacterianas diferentes (*S. pneumoniae*, *S. aureus* e *K. pneumoniae*) e a espécie *Ganoderma* cf. *amazonense* contra duas espécies bacterianas (*S. aureus* e *K. pneumoniae*). Trabalhos com a atividade antibacteriana com espécies do gênero *Cymatoderma* ainda não foram relatados, mas com espécies do gênero *Ganoderma*, podem ser encontradas algumas pesquisas para diferentes atividades biológicas, incluindo atividade antibacteriana (AMERI et al., 2011).

Extratos em acetato de etila de *Ganoderma praelongum* e *G. resinaceum* apresentaram atividade contra diferentes cepas de *S. aureus* resistente a metilina, e as substâncias responsáveis por esta atividade fazem parte do grupo dos sequiterpenos (AMERI et al., 2011). Várias espécies de *Ganoderma* são conhecidas por apresentarem atividades biológicas, destacando a espécie *G. lucidum*, com atividade antitumoral, e antiparasitária (ADAMS et al., 2010; ZHANG et al., 2010), sendo os polissacarídeos e triterpenos principais responsáveis por essas atividades (BISHOP et al., 2015).

As morfoespécies 5.5 (Agaricales), *Coriolopsis caperata*, *Cyclomyces iodinus*, *Gloeoporus thelephoroides*, *Phellinus gilvus*, *Marasmius* sp., 5.51 (Polyporales), 5.67 (Polyporales) e *Tyromyces* cf. *polyporoides* apresentaram atividade contra apenas uma das espécies bacterianas testadas. As espécies *Coriolopsis caperata*, *Cyclomyces iodinus*, *Cymatoderma* sp. e *Tyromyces* cf. *polyporoides*, estão sendo relatadas para atividade antibacteriana pela primeira vez neste trabalho.

Extratos de metabólitos de duas espécies de *Marasmius* sp. foram descritos com resultado positivo para atividade antibacteriana contra a bactéria Gram-negativa *E. coli* (ROSA et al., 2003), semelhante ao observado neste trabalho. A morfoespécie 5.55 (Agaricales) foi capaz de inibir o crescimento de *S. aureus*. Carvalho et al. (2007) estudando extratos de metabólitos de espécies da ordem Agaricales (*Lentinula boryana* e *L. edodes*) também observou atividade contra *S. aureus*.

No contexto Amazônico, trabalhos com atividade antimicrobiana de diferentes espécies de basidiomicetos utilizando extratos de metabólitos são reduzidos. Sendo possível encontrar apenas uma pesquisa, onde os extratos em acetato de etila dos basidiomicetos Basidiomycete 347, *Pleurotus* sp., *Gloeophyllum* sp., *Oudemansiella canarii*, *Earliella scabrosa* e *Trametes* sp. inibiram o crescimento de *E. coli* e *S. aureus*, sendo que a maioria dos basidiomicetos estudados pertencem a ordem Polyporales (OLIVEIRA, 2014), semelhante aos resultados deste trabalho, onde a ordem Polyporales apresentou maior atividade.

A maioria dos trabalhos encontrados com seleção de basidiomicetos para atividade antibacteriana, mostram maior atividade contra bactérias Gram-positivas (ROSA et al., 2003; NOWACKA et al., 2015). Entretanto, neste trabalho os extratos dos metabólitos apresentaram maior atividade contra bactérias Gram-negativas. Segundo Kosanic et al. (2016), os prováveis mecanismos de ação de antimicrobianos de basidiomicetos são a inibição da síntese da parede celular, síntese de proteínas ou síntese de ácidos nucleicos. Sendo assim, é necessário dar continuidade as pesquisas para isolar o metabólito ativo e verificar os mecanismos de ação das substâncias isoladas de basidiomicetos com potencial antibacteriano.

Tabela 6. Número de registro, identificação taxinômica e atividade antibacteriana de extratos metabólitos de basidiomicetos coletados no Parque Zoobotânico da UFAC.

Nº de registro	Identificação Taxonômica	Bactérias/tamanho do halo (mm)			
		<i>Streptococcus pneumoniae</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Escherichia coli</i>
5.5	Agaricales				
5.20	Agaricales				
5.55	Agaricales	++			
5.151	Agaricales				
5.165	Agaricales				
5.18	<i>Amauroderma</i> sp.				
5.49	<i>Coriopsis caperata</i>			+	
5.153	<i>Cotylidia aurantiaca</i>				
5.34	<i>Cyclomyces iodinus</i>				+
5.69	<i>Cyclomyces iodinus</i>			+	
5.71	<i>Cymatoderma</i> sp.	+	+	+	
5.38	<i>Favolus</i> sp.				
5.36	<i>Ganoderma</i> cf. <i>amazonense</i>		+	+	
5.143	<i>Geastrum</i> sp.				
5.44	<i>Gloeporus theleporoides</i>				+
5.46	<i>Gloeporus theleporoides</i>			+	
5.58	<i>Leucocoprinus</i> sp.				
5.59	<i>Marasmius</i> sp.				+
5.43	<i>Phellinus gilvus</i>				+
5.19	Polyporales				
5.22	Polyporales				
5.27	Polyporales				
5.50	Polyporales			+	+
5.51	Polyporales				+
5.67	Polyporales				+
5.79	Polyporales				
5.156	Polyporales				
5.12	<i>Pycnoporus sanguineus</i>				
5.72	<i>Schizophyllum commune</i>				
5.77	<i>Schizophyllum commune</i>				
5.33	<i>Trametes modesta</i>				
5.90	<i>Tyromyces</i> cf. <i>polyporoides</i>	++			

+ = <10 mm, ++ = 10-15 mm.

As condições de cultivos também podem influenciar na produção de compostos antibacterianos. Foram estudadas as condições de cultivo de duas espécies de *Polyporus*, utilizando dois tipos de meio de cultura. Como resultado o meio de cultura extrato de malte peptonado favoreceu a produção de substâncias antibacterianas (VIEIRA, 2005). Para a atividade antibiótica de *Antrodia albida*, foram utilizados quatro meios diferentes, o meio de cultura que favoreceu a maior atividade contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas foi o Melin-Norkrans modificado (BEKAI, 2010). Neste trabalho foi utilizado apenas uma condição de cultivo para o crescimento dos basidiomicetos, o que pode ter influenciado na produção de substâncias antibacterianas. Portanto, são necessários estudos posteriores para avaliar as condições de cultivos, com o objetivo de otimizar o processo de produção de substâncias antibacterianas.

A metodologia utilizada para avaliar a atividade antibacteriana neste trabalho também pode ter relação com os resultados obtidos, pois o método de difusão em disco é muito dependente da capacidade de difusão das substâncias no meio de cultura (REN et al., 2014). Um dos fatores que está associado à dificuldade de difusão das substâncias no ágar, é o seu peso molecular (SILVEIRA et al., 2009). As atividades antimicrobianas de basidiomicetos estão associadas não somente com moléculas de metabólitos secundários de baixo peso molecular, mas também com moléculas de alto peso molecular, como os polissacarídeos (ZJAWIONY, 2004).

CONCLUSÕES

As contaminações foram as principais causadoras do número reduzido de isolados. Com isso, é importante estudos para elaboração de protocolos de isolamento para basidiomicetos. Os extratos metabólitos de basidiomicetos da ordem Polyporales apresentaram atividade antibacteriana com maior frequência, principalmente contra bactérias Gram-negativas, indicando potencial antibacteriano deste grupo de fungos.

A maioria das espécies estudadas ainda não tinham sido relatada na literatura com atividade antibacteriana, como as espécies *Corioloopsis caperata*, *Cyclomyces iodinus*, *Cymatoderma* sp. e *Tyromyces* cf. *polyporoides*, relatadas pela primeira vez neste trabalho.

3. CONCLUSÕES GERAIS

O Parque Zoobotânico da Universidade Federal do Acre apresentou 14 espécies que ainda não tinham sido relatadas para o Estado do Acre, além disso mostrou alta diversidade de espécies, baixa dominância e alta equitabilidade entre as espécies, como resultados dos Índices de Shannon (H'), Simpson e Eveness.

Os extratos etanólicos de basidiomicetos Amazônicos demonstraram atividade antibacteriana principalmente contra bactérias Gram-positivas. As espécies da ordem Polyporales (*Favolus tenuiculus*, *Gloeporus theleporoides*, *Polyporus* cf. *grammocephalus*, e *Pycnoporus sanguineus*) foram as que apresentaram maior atividade. Os resultados deste estudo contribuem para primeira informação de atividade antibacteriana da espécie *Favolus tenuiculus*.

No isolamento as contaminações por outros fungos foram as principais causadoras do número reduzido de isolados. Os extratos metabólitos de basidiomicetos da ordem Polyporales apresentaram atividade antibacteriana com maior frequência contra bactérias Gram-negativas. A maioria das espécies estudadas ainda não tinham sido relatada na literatura com atividade antibacteriana, As espécies *Corioloopsis caperata*, *Cyclomyces iodinus*, *Cymatoderma* sp. e *Tyromyces* cf. *polyporoides*, foram relatadas pela primeira vez para a atividade antibacteriana neste trabalho.

4. REFERÊNCIAS

- ABRAHÃO, M. C. **Estudo da diversidade de Basidiomicetos poliporoides de fragmentos florestais remanescentes do noroeste paulista**. 2009. 240 f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia) – Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, São José do Rio Preto – SP.
- ADAMS, M.; CHRISTEN, M.; PLITZCO, I.; ZIMMERMANN, S.; BRUN, R.; KAISER, M.; HAMBURGER, M. Antiplasmodial Lanostanes from the *Ganoderma lucidum* Mushroom. **Journal of Natural Products**, v.73, n.5, p.897-900, 2010.
- AKYUZ, M.; KIRBAG, S. Antimicrobial activity of *Pleurotus eryngii* var. *ferulae* grown on various agro-wastes. **Eurasian Journal of BioSciences**, v. 3, p.58-53, 2009.
- AL-FATIMI, M.; SCHRODER, G.; KREISEL, H.; LINDEQUIST, U. Biological activities of selected basidiomycetes from Yemen. **Pharmazie**, v.68, n.3, p.221-226, 2013.
- ALVES, M. J.; FERREIRA, I. C. F. R.; DIAS, J.; TEIXEIRA, V.; MARTINS A.; PINTADO, M.A Review on antimicrobial activity of Mushroom (Basidiomycetes) extracts and isolated Compounds. **Planta Medica**, v. 78, p.1707-1718, 2012a.
- ALVES, M. J.; FERREIRA, I.C.F.R.; MARTINS, A.; PINTADO M. Antimicrobial activity of wild mushroom extracts against clinical isolates resistant to different antibiotics. **Journal of Applied Microbiology**, v. 113, p. 466-475, 2012b.
- AMERI, A.; VAIDYA, J.; DEOKULE, S. S. In vitro evaluation of anti-staphylococcal activity of *Ganoderma lucidum*, *Ganoderma praelongum* and *Ganoderma resinaceum* from Pune, India. **African Journal of Microbiology**, v.5. n.3, p. 328-333, 2011.
- ANDRADE, A. L. C. **Aspectos do crescimento e influência de parâmetros físicos na atividade da lacase do fungo Amazônico *Trametes lactinea***. 2011. 116 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia e Recursos naturais da Amazônia) – Universidade do Estado do Amazonas, Manaus – AM.
- ATHAYDE, M. M. S. **Citoxidade e atividade antimicrobiana de extratos de duas cepas do fungo *Pycnoporus sanguineus* oriundas da Amazônia**. 2011. 51 f. Tese (Doutorado em Odontologia na área de Farmacologia, Anestesiologia e Teraupêutica). Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Odontologia de Piracicaba – Piracicaba –SP.
- AVIZ, G. A. **Ação antimicrobiana do cogumelo *Agaricus subrufescens* sobre os micro-organismos gram-negativos *Shigella flexneri*, *Salmonella typhimurium* e *Escherichia coli*, causadores de infecção em humanos**. 2013. 41 f. (Monografia), Universidade Católica de Brasília, Brasília – DF.
- NOWACKA, N.; NOWAK, R.; DROZD, M.; OLECH, M.; LOS, R.; MALM, A. Antibacterial, Antiradical Potential and Phenolic Compounds of Thirty-One Polish Mushrooms. **Plos one**, v.10, n.10, p.1-13, 2015.
- BAPTISTA, M. G. F. M. **Mecanismos de Resistência aos Antibióticos**. 2013. 51 f. Dissertação (Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologia, Lisboa.

BARBOSA, F. B.; MAIA, L. C.; GUSMÃO, L. F. P. Fungos conidiais associados ao folheto de *Clusia melchiorii* Gleason e *C. nemorosa* G. Mey. (*Clusiaceae*) em fragmento de Mata Atlântica, BA, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 23, n.1, p.79-84, 2009.

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

BISHOP, K. S.; KAO, C. H. J.; XU, Y.; GLUCINA, M. P.; PATERSON, R. M.; FERGUSON, L. R. From 2000 years of *Ganoderma lucidum* to recent developments in nutraceuticals. **Phytochemistry**, v.114, p.56-65, 2015.

BLACKWELL, M.; VILGALYS, R.; JAMES, T. Y.; TAYLOR J. W. **Fungi. Eumycota: mushrooms, sac fungi, yeast, molds, rusts, smuts, etc.** 2012. Disponível em <<http://tolweb.org/>> .Acesso em: 21.set.2015.

BLANCO, M. G.; MEJIA, C.; ISTURIZ, R.; ALVAREZ, C.; BAVESTRELLO, L.; GOTUZZO, E.; LABARCA, J.; LUNA, C. M.; NORIEGA, E. R.; SALLES, M. J. C.; ZURITA, J.; SEAS, C. Epidemiology of meticillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in Latin America. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v.34, p.304-308, 2009.

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

BONONI, V. L. R.; OLIVEIRA, A. K. M.; QUEVEDO, J. R.; GUGLIOTTA, A. M. Fungos macroscópicos do Pantanal do Rio Negro, Mato Grosso do Sul, Brasil. **Hoehnea**, v.35, n.4, p.489-511, 2008.

BRITO, M. A.; CORDEIRO, B. C. Necessidade de novos antibióticos. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 48, n.4, p. 247-249, 2012.

ZAILO, A. S.; SILVA, M. A. T. Novas ocorrências de Agaricales (Basidiomycota) no Estado do Acre. In: **VIII Congresso Brasileiro de Micologia**, 2016, Florianópolis, SC.

BONONI, V. L.; Fungos macroscópicos de Rio Branco, Acre, Brasil. **Hoehnea**, v.19, p.31-37, 1992.

BOSE, S. R. Antibiotics in a *Polyporus* (*Polystictus sanguineus*). **Nature**, v.158, p.292-2966, 1946.

BUTLER; M. S.; COOPER, M. Antibiotics in the clinical pipeline in 2011. **The Journal of Antibiotics**, v.64, p.413-425, 2011.

CAPOBIANCO, J.P.R., VERÍSSIMO, A., MOREIRA, A., SAWYER, D., SANTOS, I.P., PINTO, L.P. 2001. **Biodiversidade na Amazônia brasileira: avaliação e ações prioritárias para a conservação, uso sustentável e repartição de benefícios**. Estação Liberdade: Instituto Sócio ambiental, São Paulo.

CARVALHO, M. P.; VAN DER SAND, S.T; ROSA, E. A. R. ; GERMANI, J.C.; ISHIKAWA, N.K. Investigation of the antibacterial activity of basidiomycetes *Lentinula boryana* and *Lentinula edodes*. **Biociências**, v. 15, p. 173-179, 2007.

CASTRO, A. J. G; CASTRO, L. S. E. P. W; SANTOS, M. S. N; FAUSTINO, M. C. G; PINHEIRO, T. S; DORE, C. M. P; BASEIA, J. G; LEITE, E. L. Anti-inflammatory, anti-angiogenic and antioxidant activities of polysaccharide-rich extract from fungi *Caripia montagnei*. **Biomedicine e Nutrition Preventive**, v.4, p. 121-129, 2014.

CHAVES, R. S.; VARGAS-ISLA, R.; ARAÚJO, A. M. M.; TAVARES, J. C. N.; ISHIKAWA, N. K. Triagem de macrofungos de ocorrência da Amazônia produtores de compostos antimicrobianos. In: **II Congresso de Iniciação Científica PIBIC/CNPq – PAIC/FAPEAM**, 2013, Manaus, AM.

CHEN, Y; GU, X; HUANG, S; LI, J; WANG, X; TANG, J. Optimization of ultrasonic/microwave assisted extraction (UMAE) of polysaccharides from *Inonotus obliquus* and evaluation of its anti-tumor activities. **International Journal of Biological Macromolecules** v.46, p.429–435, 2010.

COIMBRA, V. R. M. **Fungos Agaricóides (Agaricales, Basidiomycota) da Reserva Biológica Saltinho, Pernambuco: Diversidade e aspectos moleculares**. 2013. 79 f. Dissertação (Mestrado em Biologia de Fungos) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife – PE.

CUI, J.; CHISTI, Y. Polysaccharopeptides of *Coriolus versicolor*: physiological activity, uses, and production. **Biotechnology Advances**, v. 21, p.109-122, 2003.

DEMIR, M. S.; YAMAÇ, M. Antimicrobial activities of basidiocarp, submerged mycelium and exopolysaccharide of some native basidiomycetes strains. **Journal of Applied Biological Sciences** v. 2, n.3, p. 89-93, 2008.

DONINI, L. P.; BERNARDI, E.; NASCIMENTO, J. S. do. Desenvolvimento in vitro de *Agaricus brasiliensis* em meios suplementados com diferentes farelos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 41, n. 6, p. 995 – 999, 2006.

DUDKA, M. M; JASZEK, M; BLACHOWICZ, A; REJCZAK, T. P; MATUSZEWSKA, A; JAROSZUK, M. O; STEFANIUK, D; JANUSZ, G; SULEJ, J; SZERSZEN, M. K. Fungus *Cerrena unicolor* as na effective source of new antiviral, immunomodulatory, na anticâncer compounds. **International Journal of Biological Macromolecules**, v.79, p. 459-468, 2015.

DUFFY, C. F.; POWER, R. F. Antioxidant and antimicrobial properties of some Chinese plant extracts. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v.17, p.527-529, 2001.

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

DZIDIC, S., SUSKOVIC, J., KOS, B. Antibiotic resistance Mechanisms in Bacteria: Biochemical and Genetic Aspects. **Food Technology Biotechnology**. v.46, n.11, p.11-21, 2008.

ENSHASY, H. A.; KAUL, R. H. Mushroom imunomodulators: unique molecules with unlimited applications. **Trends in Biotechnology**, v.31, n.12, p. 668 - 677, 2013.

FALGENHAUER, L.; IMIRZALIOGLU, C.; GHOSH, H.; GWOZDZINSKI, K.; SCHMIEDEL, J.; GENTIL, K.; BAUERFEIND, R.; KAMPFER, P.; SEIFERT, H.; MICHAEL, G. B.; SCHWARZ, S.; PFEIFER, Y.; WERNER, G.; PIETSCH, M.; ROESLER, U.; GUERRA, B.; FISCHER, J.; SHARP, H.; KASBOHRER, A.; GOESMANN, A.; HILLE, K.; KREIENBROCK, L.; CHAKRABORTY, T. Circulation of clonal populations of fluoroquinolone-resistant CTX-M-15-producing *Escherichia coli* ST410 in humans and animals in Germany. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 47, p.457-465, 2016.

FABIAN K.; ANKE T.; STERNER O. 6,9-Dihydroxy-3(15)-caryophyllen-4,8-dione - a new antibiotic from a *Marasmius* species. **Journal of Biosciences**, v.4, p.469-473, 1999.

FIGUEIREDO, A. M.; FERREIRA, F. A. The multifaceted resources and microevolution of the successful human and animal pathogen methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 109, n. 3, p.265-278, 2014.

FORZZA, R C., org., *et al.* INSTITUTO DE PESQUISAS JARDIM BOTÂNICO DO RIO DE JANEIRO. *Catálogo de plantas e fungos do Brasil* [online]. Rio de Janeiro: Andrea Jakobsson Estúdio: Instituto de Pesquisa Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2010. 828 p. Vol. 1. ISBN 978-85- 8874-243-7. Disponível em SciELO Books <<http://books.scielo.org>>.

GILBERTSON RL, RYVARDEN L. **North American Polypores**. 1 ed. Oslo: Fungiflora, 1987.

GIMENES, L. J. **Fungos Basidiomicetos - Técnicas de coleta, isolamento e subsídios para processos Biotecnológicos**. 2010. (Curso de Capacitação de Monitores e Educadores). Instituto de Botânica – IBt. São Paulo.

GIRI, S.; BISWAS, G.; PRADHAN, P.; MANDAL, S. C.; ACHARYA, K. Antimicrobial activities of basidiocarps of wild edible mushrooms of west Bengal, India. **International Journal of PharmTech Research**, v.4. n.4, p.1554-1560, 2012.

GODOY, M. F. P. **Atividade antimicrobiana de extratos e frações do cultivo in vitro de *Lentinula edodes* contra *Xanthomonas axonopodis* pv *passiflorae*, *Guignardia citricarpa*, *Colletotrichum sublineolum* e *Tobacco mosaic virus***. 2008. 126 f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade de São Paulo, Piracicaba – SP.

GOMES-SILVA. **Diversidade de fungos poróides (Agaricomycetes) na Amazônia Brasileira**. 2013. 298 f. Tese (Doutorado em Biologia de Fungos) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, PE.

GOMES-SILVA, A. C. G.; GIBERTONI, T. B. Checklist of the aphylloraceous fungi (Agaricomycetes) of the Brazilian Amazonia. **Mycotaxon**, v.108, p.319-322, p. 2009.

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

GREGORI, A.; SVAGELJ, M.; POHLEVEN, J. Cultivation techniques medicinal properties of *Pleurotus* spp. **Food Technology and Biotechnology**, v.45, n.3, p.238-249, 2007.

GUILHERME, E. Comunidade de aves do Campus e do Parque Zoobotânico da Universidade Federal do Acre, Brasil. **Tangara**, v.1, n.2, p. 57-73, 2001.

GUILLAMÓN, E.; LAFUENTE, A. G.; LOZANO, M.; D'ARRIGO, M.; ROSTAGNO, M. A.; VILLARES, A.; MARTÍNEZ, J. A. Edible mushrooms: Role in the prevention of cardiovascular diseases. **Fitoterapia**, v.81, p.715-723, 2010.

GUTIÉRREZ, D.; RODRIGUEZ-RUBIO, L.; GARCÍA, P. BILLINGTON, C.; PREMARANTE, A.; RODRIGUEZ, A.; MARTÍNEZ, B. Phage sensitivity and prophage carriage in *Staphylococcus aureus* isolated from foods in Spain and New Zealand. **International Journal of Food Microbiology**, v. 230, p.16-20, 2016.

HAMMERSCHMIDT, L.; OLA, A.; MULLER, W. E. G.; LIN, W.; MÁNDI, A.; KURTÁN, T.; PROKSCH, P.; ALY, A. H. Two new metabolites from the endophytic fungus *Xylaria* sp. isolated from the medicinal plant *Curcuma xanthorrhiza*. **Tetrahedron Letters**, v. 56, p.1193-1197, 2015.

HARMAN, G. E.; HOWELL, C. R.; VITERBO, A.; CHET, I.; LORITO, M. *Trichoderma* species opportunistic, avirulent plant symbionts. **Nature Reviews**, v. 2, p.43-56, 2004.

HAWKEY, P. M.; JONES, A. M. The changing epidemiology of resistance. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 64, suppl. 1, p.i3-i10, 2009.

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

HELENO, S. A; BARROS, L; MARTINS, A; MORALES, P; RUIZ, V. F; GLAMOCLIJA, J; SOKOVIC, M; FERREIRA, I. C.F.R. Nutritional value, bioactive compounds, antimicrobial activity and bioaccessibility studies with wild edible mushrooms. **LWT - Food Science and Technology**, v.63, p.799-806, 2015.

HWANG, B. S; LEE, I. K; CHOI, H. J; YUN, B. S. Anti-influenza activities of polyphenols from the medicinal mushroom *Phellinus baumii*. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v.25. p. 3256-3260, 2015.

ISHIKAWA, N. K.; ISLA, R. V.; CHAVES, R. S.; CABRAL, T. S. Macrofungos da Amazônia: Importância e Potencialidades. **Ciência e Ambiente**, v.44, p. 130-139, 2012.

ISHIKAWA, N. K.; KASUYA, M. C. M.; VANETTI, M. C. D. Antibacterial activity of *Lentinula edodes* grown in liquid medium. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.32, p.206-210, 2001.

IVANOVA, T. S.; KRUPODOROVA, T. A.; BARSHTEYN, V. Y.; ARTAMONOVA, A. B.; SHLYAKHOVENKO, V. A. Anticancer substances of mushrooms origin. **Experimental Oncology**, v.36, n.2, p.58-66, 2014.

KADIOKLU, A.; WEISER, J. N.; PATON, J. C.; ANDREW, P. W. The role of *Streptococcus pneumoniae* virulence factors in host respiratory colonization and disease. **Nature Reviews**, v. 6, p.288-301, 2008.

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

KALYONCU, F.; OSKAY, M.; SAGLAM, H.; ERDOGAN, F.; TAMER, A. U. Antimicrobial and Antioxidant Activities of Mycelia of 10 Wild Mushroom Species. **Journal of Medicinal Food**, v.13, n.2, p.415-419, 2010.

KARSTEDT, F.; STURMER, S. L. Agaricales em áreas de Floresta Ombrófila Densa e plantações de Pinus no Estado de Santa Catarina, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, v.22, n.4, p.1036-1043, 2008.

KIRK, P.M.; CANNON, P.F.; DAVID, J.C., STALPERS, J.A. 2008. **Dictionary of Fungi**. 10ed. CABI Publishing, Surrey, 771p.

KITZBERGER, C. S. G.; SMÂNIA, A.; PEDROSA, R. C.; FERREIRA, S. R. S. Antioxidant and antimicrobial activities of shiitake (*Lentinula edodes*) extracts obtained by organic solvents and supercritical fluids. **Journal of Food Engineering**, v 80, p. 631–638. 2007.

KLAUS, A.; KOZARSKI, M.; VUNDUK, J.; TODOROVIC, N.; JAKOVLJEVIC, D.; ZIZAK, Z.; PAVLOVIC, V.; LEVIC, S.; NIKSIC, M.; GRIENSVEN, L. J. L. D. V. Biological potential of extracts of the wild edible Basidiomycete mushroom *Grifola frondosa*. **Food Research International**, v. 67, p.272-283, 2015.

KO, H. H; HUNG, C. F; WANG, J. P; LIN, C. N. Antiinflammatory triterpenoids and steroids from *Ganoderma lucidum* and *G. tsugae*. **Phytochemistry**, v.69, p. 234-239, 2008.

KOLUNDZIC, M.; GROZDANIC, N. D.; DODEVSKA, M.; MILENKOVIC, M.; SISTO, F.; MIANI, A.; FARRONATO, G.; KUNDAKOVIC, T. **Industrial Crops and Products**, v. 79, p.110-115, 2015.

KOSANIC M, RANKOVIC B, RANCIC A, STANOJKOVIC T. Evaluation of metal concentration and antioxidant, antimicrobial, and anticancer potentials of two edible mushrooms *Lactarius deliciosus* and *Macrolepiota procera*. **Journal of Food and Drug Analysis**, v. 24, n.3, p.477-484, 2016.

KOMURA, D. L.; CARBONERO, E. R.; GRACHER, A. H. P.; BAGGIO, C. H.; FREITAS, C. S.; MARCON, R.; SANTOS, A. R. S.; GORIN, P. A. J.; IACOMINI, M. Structure of *Agaricus* spp. fucogalactans and their anti-inflammatory and antinociceptive properties. **Bioresource Technology**, v. 101, p. 6192-6199, 2010

LARGENT D, JOHSON D, WATLING R. **How to identify mushrooms to genus III: Microscopic features**. 1 ed. Eureka, CA: Mad River Press Inc., 1977.

LEMOS, F. M. R. **Elaboração e caracterização de produto análogo a hambúrguer de cogumelo *Agaricus brasiliensis***. 2009. 147f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal do Paraná. Curitiba - PA, 2009.

LIMA, M. A. **Potencial biotecnológico de Basidiomicetos isolados no estado do Paraná**. 2009. 119 f. Dissertação (Mestrado em Processos Biotecnológicos) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba –PA.

LOPES, A. C. S.; RODRIGUES, J. F.; CABRAL, A. B.; SILVA, M. E.; LEAL, N. C.; SILVEIRA, V. M.; JÚNIOR, M. A. M. Occurrence and analysis of irp2 virulence gene in isolates of *Klebsiella pneumoniae* and *Enterobacter* spp. from microbiota and hospital and community-acquired infections. **Microbial Pathogenesis**, v. 19, p. 15-19, 2016.

LOUVA, G. S. G.; GUGLIOTTA, A. M. Polyporus Fr. (Polyporaceae) no Parque Estadual das Fontes do Ipiranga, São Paulo, SP, **Brasil. Hoehnea**, v. 34, n. 3, p.365-382, 2007.

LOVINO, F.; SEINEN, J.; HENRIQUES-NORMARK, B.; DIJL, J. M. How does *Streptococcus pneumoniae* invade the brain? **Trends in Microbiology**, v. 24, n.4, p. 307-3015, 2016.

MAEHARA, Y.; TSUJITANI, S.; SAEKI, H.; OKI, E.; YOSHINGA, K.; EMI, Y.; MORITA, M.; KOHNOE, S.; KAKEJI, Y.; YANO, T.; BABA, H. Biological mechanism and clinical effect of protein-bound polysaccharide K (KRESTIN®): review of development and future perspectives. **Surgery Today**, v. 42, p.8-28, 2012.

MAHA, A.; RUKACHAISIRIKUL, V.; PHONGPAICHIT, S.; POONSUWAN, W.; SAKAYAROJ, J. Dimeric chromanone, cyclohexenone and benzamide derivatives from the endophytic fungus *Xylaria* sp. PSU-H182. **Tetrahedron**, v. 72, p. 2874-2879, 2016.

MARQUEZ, M. F. O.; GUSMÃO, L. F. P.; MAIA, L. C. Riqueza de espécies de fungos conidiais em duas áreas de Mata Atlântica no Morro da Pioneira, Serra da Jibóia, BA, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 22. n. 4, p.954-961, 2008.

MARTIN, D.; FOUGNOT, S.; GROBOST, F. THIBAUT-JOVELIN, S.; BALLEREAU, F.; GUEUDET, T.; MOUY, D.; ROBERT, J. Prevalence of extended-spectrum beta-lactamase producing *Escherichia coli* in community-onset urinary tract infections in France in 2013. **Journal of Infection**, v. 72, p.201-206, 2015.

MATSUHISA, K.; YAMANE, S.; OKAMOTO, T; WATARI, A.; KONDOH, M.; MATSUURA, Y.; YAGI, K. Anti-HCV effect of *Lentinula edodes* mycelia solid culture extracts and low-molecular-weight lignina. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v.462, p.52-57, 2015.

MEYER, K. S.; URBAN, C.; EAGAN, J. A.; BERGER, B. J.; RAHAL, J. J. Nosocomial outbreak of *Klebsiella pneumoniae* infection resistant to late generation cephalosporins. **Annals of Internal Medicine** v. 119, p. 353-8, 1993.

MIGLIORI, G. B.; RICHARDSON, M. D.; SOTGIU, G. Multidrug-resistance and extensively drug-resistant tuberculosis in the West. Europe and United: Epidemiology, surveillance, and control. **Clinics In Chest Medicine**, v.30, p.637-665, 2009.

MOTHANA, R. A. A.; ALI, N. A. A.; JANSEN, R.; WEGNER, U.; MENDEL, R.; LINDEQUIST, U. Antiviral lanostanoid triterpenes from the fungus *Ganoderma pfeifferi*. **Fitoterapia**, v. 74, p. 177-180, 2003.

MULLARD, A. 2010 FDA drug approvals. **Nature Reviews**, v.10, 2011.

NASCIMENTO, A. T. R.; JESUS, M. A.; COSTA, J. S.; CARVALHO. Macrofungos (Basidiomicetos) da região Amazônica com potencial alimentar. In: **XX Jornada de Iniciação Científica PIBIC INPA-CNPq/FABEAM**, 2011, Manaus- AM.

NCCLS. **Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests**; Approved Standard—Eighth Edition. NCCLS document M2-A8 [ISBN 1-56238-485-6]. NCCLS, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 USA, 2003.

NETO, J. T. V. **Diversidade e seleção de fungos basidiomicetos afiloforóides para a produção de enzimas lignocelulolíticas em áreas de Mata Atlântica do sul da Bahia**. 2010. 72 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana - BA.

NETA, L. S. **Diversidade de Agaricomycetes terrícolas (Clavarioides, Esteroides e poroides) em Mata Atlântica de Pernambuco, Brasil**. 2013. 87 f. Dissertação (Mestrado em Biologia de Fungos)Universidade Federal de Pernambuco, Recife, PE.

NEVES, P. R.; MAMIZUKA, E. M.; LEVY, C. E.; LINCOPAN, N. *Pseudomonas aeruginosa* multirresistente: um problema endêmico no Brasil. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 47, n. 4, p. 409-20, 2011.

NICOLAS-CHANOINE, M. H.; BERTRAND, X.; MADEC, J. Y. *Escherichia coli* ST131, an Intriguing Clonal Group. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 27, n. 3, p.543-574, 2014.

NOVAES, M. R. C. G. Cogumelos comestíveis da Ordem Agaricales: Aspectos nutricionais e atividade farmacológica no câncer. **Infarma**, v.19, n.5, 2007.

NUNEZ M, RYVARDEN L. **Polyporus (Basidiomycotina) and related genera**. 1 ed. Oslo: Fungiflora, 1995.

OLIVEIRA, K. K. C. **Atividade antimicrobiana de basidiomicetos ocorrentes na Amazônia**. 2014. 67 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) - Universidade Federal do Amazonas, Manaus – AM.

OSONO, T.; TO-ANUN, C.; HAGIWARA, Y.; HIROSE, D. Decomposition of wood, petiole and leaf litter by *Xylaria* species from northern Thailand. **Fungal Ecology**, v. 4, p.210-218, 2011.

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

OZTURK, M.; DURU, M. E.; KIVRAK, S.; DOGAN, N. M.; TURKOGLU, A.; OZLER, M. A. In vitro antioxidant, anticholinesterase and antimicrobial activity studies on three *Agaricus* species with fatty acid compositions and iron contents: A comparative study on the three most edible mushrooms. *Food and Chemcam Toxicology*, v.49, p.1353-130, 2011.

PACSOZA, M.; MECSAS, J. *Klebsiella pneumoniae*: Going on the Offense with a Strong Defense. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v. 80, n. 3, p.629-661, 2016.

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

PARK, Y.M.; WON, J. H.; KIM, Y. H.; CHOI, J. W.; PARK, H. J.; LEE, K. T. In vivo and in vitro anti-inflammatory and antinociceptive effects of the methanol extract of *Inonotus obliquus*. **Journal of Ethnopharmacology**, v.101, p.120-18, 2005

PILLAI, T.; DEVI, P. U. Mushroom beta glucan: Potential candidate for post irradiation protection. **Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, v.751, p.109-115, 2013.

PIRES, E. Z.; DALBOSCO, E. Z.; GONÇALVES, M. J.; TONINI, R. C. G. Biodiversidade de basidiomicetos encontrados em um fragmento de Floresta Ombrófila Mista. **Ambiência Guarapuava** , v.10, n.2, p.489 – 496, 2014.

PEGLER D. N. **Agaric flora of the Lesser Antilles**. 1 ed. London: Kew Bulletin, 1983.

RAI, M.; BISWAS, G.; ACHARYA, K. Antioxidant and nitric oxide synthase activation properties of *Polyporus grammnocephalus* Berk. **International Journal of Biomedical and Pharmaceutical Sciences**, v.2, n.1, p.160-1633, 2007.

RAI, M.; TIDKE, G.; WASSER, S. P. Therapeutic potential of mushrooms. **Natural Product Radiance**, v. 4, n.4, p. 246-257, 2005.

RÉGIS, W. C. B.; ROSA, A. A.; PEREIRA, N. C. J. Avaliação dos potenciais benefícios da ingestão do cogumelo *Agaricus blazei* para a microbiota endógena: análise de efeitos in vivo e in vitro sobre diferentes linhagens bacterianas. **Percorso Acadêmico**, v.2, n.3. p.10-18, 2012.

REN, L; HEMAR, Y; PERERA, C. O; LEWIS, G; KRISSENSSEN, G. W; BUCHANAN, P. K. Antibacterial and antioxidant activities of aqueous extracts of eight mushrooms. **Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre**, v.3, p. 41-51, 2014.

ROSA, L. H; MACHADO, K. M. G; JACOB, C. C.; CAPELARI, M ; ROSA, C. A; ZANI, C. L. Screening of Brazilian basidiomycetes for antimicrobial activity. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 98, n.7, p. 967-974, 2003.

ROTHER, M. S.; SILVEIRA, R. M. B. Família Agaricaceae (Agaricales, Basidiomycota) no Parque Estadual de Itapuã, Viamão, Rio Grande do Sul, Brasil. **Revista Brasileira de Biociências**, v.6, n.3, p. 259-268, 2008.

RYVARDEN, L.; ITURRIAGA, T. Studies in neotropical polypores 10 new polypores from Venezuela. **Mycologia**, v.95, n.6, p.1066-1077, 2003.

- RYVARDEN L. **Genera of Polypores**. 1 ed. Oslo: Fungiflora, 1991.
- RYVARDEN L, JOHANSEN I. **A preliminary polypore flora of East Africa**. 1 ed. Oslo: Fungiflora, 1980.
- RYVARDEN L. **Neotropical polypores part 1**. 1 ed. Oslo: Fungiflora, 2004.
- RYVARDEN L. **Stereoid of America**. 1 ed. Oslo: Fungiflora, 2010.
- RYVARDEN L. **Neotropical polypores part 2**. 1 ed. Oslo: Fungiflora, 2015.
- SANTOS, N. Q. A resistência bacteriana no contexto da infecção hospitalar. **Texto Contexto Enfermagem**, v.13, p.64-70, 2004.
- SHASHKOV, S. A.; ZHANG, W.; PERPELOV, A.; WEINTRAUB, A.; LIU, B.; WILDMALM, G.; KNIREL, Y. A. Structure of the O-polysaccharide of *Escherichia coli* O123. **Carbohydrate Research**, v. 427, p.44-47, 2016.
- SONG J.; XING G. Y.; CAO J. M.; TENG L. R.; LI C. L.; MENG Q. F.; et al. Investigation of the antidepressant effects of exopolysaccharides obtained from *Marasmius androsaceus* fermentation in a mouse model. **Molecular Medicine Reports**, v.13, n.1, p. 939-946, 2016.
- SILVA, P. S.; CORTEZ, V. G.; SILVEIRA, R. M. B. Strophariaceae (Agaricales, Basidiomycota) no Parque Estadual de Itapuã, Viamão, Rio Grande do Sul: chave para identificação das espécies. **Revista Brasileira de Biociências**, v.6, n.3, p.253-258, 2008.
- SILVEIRA, L. M.; OLEA, R. S. G.; MESQUITA, J. S.; CRUZ, A. L.; MENDES, J. C. Metodologias de atividade antimicrobiana aplicadas a extratos de plantas: comparação entre duas técnicas de agar difusão. **Revista Brasileira de Farmácia**, v.90, n.2, p.124-128, 2009.
- SMÂNIA, A. MONACHE, F. D.; SMÂNIA, E. F. A.; GIL, M. L.; BENCHETRIT, L. C.; CRUZ, F. S. Antibacterial activity of a substance produced by the fungus *Pycnoporus sanguineus* (Fr.) Murr. **Journal of Ethnopharmacology**, v.45, p.177-181, 1995.
- SMÂNIA, E. F. A. **Esteróis e triterpenos de espécies de *Ganoderma karsten* e sua atividade antimicrobiana**. 2003. 137 f. Tese (Doutorado em química orgânica) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC.
- SMÂNIA, E. F. A.; SMÂNIA, A.; LOGUERCIO-LEITE, C.; GIL, M. L. Optimal parameters for cinnabarin synthesis by *Pycnoporus sanguineus*. **Journal Of Chemical Technology And Biotechnology**, 70: 57-59, 1997.
- SMITH, J.; ROWAN, N.; SULLIVAN, R. **Medicinal mushrooms: their therapeutic properties and current medical usage with special emphasis on cancer treatments**. Reino Unido: University of Strathclyde, 2002.

SMOLSKAITÈ, L.; VENSKUTONIS, P. R.; TALOU T. Comprehensive evaluation of antioxidant and antimicrobial properties of different mushroom species. **LWT - Food Science and Technology**, v. 60, p. 462-471, 2015.

SOARES, A. M. S.; SOTÃO, H. M. P.; MEDEIROS, S. M.; GIBERTONI, T. B. Riqueza de fungos poliporoides (Agaricomycetes, Basidiomycota) em uma floresta ombrófila densa no Amapá, Amazônia brasileira. **Boletim do Museu de Biologia Mello Leitão**, v. 35, p.5-18, 2014.

SOUZA, C. M. C. O. **Produção de metabólitos com atividade antimicrobiana de antioxidante de *Lentinula edodes* em cultivo submerso**. 2009. 86 f. Dissertação (Mestrado em Processos Biotecnológicos) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba – PR.

SOUZA, H. Q.; AGUIAR, I. J. A. Diversidade de Agaricales (Basidiomycota) na Reserva Biológica Walter Egler, Amazonas, Brasil. **Acta Amazônica**, v.43, n.1, p. 43-51, 2004.

SOUZA, N. B.; CONTESSA, C. R.; ALMEIDA, L.; MANERA, A. P.; MORAES, C. Obtenção de compostos antimicrobianos a partir de diferentes espécies de cogumelos comestíveis. In: **XXVI CONGRESSO REGIONAL DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA E TECNOLÓGICA EM ENGENHARIA**, 2014, Alegrete- RS. - v.1 (2014) - ISSN: 2318-3438, 2014.

STADLER, M.; KELLER, N. P. Paradigm shifts in fungal secondary metabolite research. **Mycological Research**, 112: 127-130, 2008.

STENUTZ, R.; WEINTRAUB, A.; WIDMALM, G. The structures of *Escherichia coli* O-polysaccharide antigens. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 30, p.382-403, 2006.

SUAY, I.; ARENAL, F.; ASENSIO, F. J.; BASILIO, A.; CABELLO, M. A.; DIEZ, M. T.; GARCIA, J. B.; VAL, A. G.; GORROCHATEGUI, J.; HERNANDEZ, P.; PALAEZ, F.; VICENTE, M. F. Screening of basidiomycetes for antimicrobial activities. **Antonie van Leeuwenhoek**, v.78, p.129-139, 2000.

TAOFIQ, O.; MARTINS, A.; BARREIRO, M. F.; FERREIRA, I. C. F. R. Anti-inflammatory potential of mushroom extracts and isolated metabolites. **Trends in Food Science & Technology**, v. 50, p.193-210, 2016.

TAYLOR, P. W. Alternative natural sources for a new generation of antibacterial agents. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 42, p.195-201, 2013.

TELLES, C. B. S. **Análises estruturais e atividades biológicas de exopolissacarídeo extraído do fungo comestível *Pleurotus sajor-caju* e de seu derivado sulfatado quimicamente**. 2010. 93 f. Dissertação (Mestrado em Bioquímica) – Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal – RN.

TENOVER, F. C. Mechanisms of antimicrobial resistance in bacteria. **Supplement 1**, v.34, n.5, p S3-S10, 2006.

THETSRIMUANG, C; KHAMMUANG, S; CHIABLAEM, K; SRISOMSAP, C; SARNTHIMA, R. Antioxidant properties and cytotoxicity of crude polysaccharides from *Lentinus polychurus* Lév. **Food Chemistry**, v.128, p.634-639, 2011.

THEURETZBACHER, U. Global antibacterial resistance: The never-ending story. **Journal of Global Antimicrobial Resistance**, v.1, p. 63-69, 2013.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. *Microbiologia*. 10. ed. Porto Alegre: Artmed, 2012. 964 p.

TUOMELA, M.; VIKMAN, M.; HATAKKA, A.; ITAVARA, M. Biodegradation of lignin in compost environment: a review. **Biosource Technology**, v.72, p.169-183, 2000.

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

VARGAS-ISLA, R.; CABRAL, T. S.; ISHIKAWA, N. K. **Instruções de coleta de macrofungos agaricales e gasteroides**. Manaus: Editora INPA, 2014.

VIEIRA, G. R. T. **Otimização das condições de cultivo de *Polyporus tricholoma* Mont. visando a produção de substâncias antibacterinas**. 2005. 120 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis – SC.

WANG, G.; ZHAO, J.; LIU, J.; HUANG, Y.; ZHONG, J. J.; TANG, W. Enhancement of IL-2 and IFN-gamma expression and NK cells activity involved in the anti-tumor effect of ganoderic acid Me in vivo. **International Immunopharmacology**, v.7, p.864–870, 2007.

WANG, H.X.; NG, T.B.; A laccase from the medicinal mushroom *Ganoderma lucidum*. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v.72, p.508–513, 2006.

WANNMACHER, L. Uso indiscriminado de antibióticos e resistência antimicrobiana: uma guerra perdida? **Uso Racional de medicamentos: temas selecionados**, v.1, n. 4, p.1-6, 2004.

WASSER, S. P. Medicinal mushroom science: current perspectives, advances, evidences, and challenges. **Biomedical Journal**, v.37, n.6, p. 345-356, 2014.

WASSER, S. P. Medicinal Mushroom Science: History, Current Status, Future Trends, and Unsolved Problems. **International Journal of Medicinal Mushrooms**, v. 12, n.1, p.1-16, 2010.

WASSER, S. P.; DIDUKH, M. Y.; AMAZONAS, M. A. L.; NEVO, E.; STAMETS, P.; EIRA, F. Is a widely cultivated culinary-medicinal Royal Sun Agaricus (the Himematsutake mushroom) indeed *Agaricus blazei* Murril? **International Journal of Medicinal Mushrooms**, v. 4, p. 267-290, 2002.

WEBSTER, J.; WEBER, R. W. S. **Introduction to Fungi**. 3. ed. New York: Cambridge University Press, 2007.

WISBECK, E. ROBERT, A.; FURLAN, S. A. Avaliação da produção de agentes antimicrobianos por fungos de gênero *Pleurotus*. **Revista Saúde e Ambiente/ Health and Environment Journal**, v.3, n.2, p.7-10, 2002.

WORRALL, J. J.; ANAGNOST, S. E.; ZABEL, R. A. Comparison of wood decay among diverse lignicolous fungi. **Mycologia**, v.89, n.2, p.199-219, 1997.

WRIGHT, G. D. Antibiotics: A new hope. **Chemistry & Biology**, v.19, p.3-10, 2012.

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

XU, Z.; CHEN, X.; ZHONG, Z.; CHEN, L.; WANG, Y. Ganoderma lucidum Polysaccharides:

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

YANG, H. L.; KUO, Y. H.; TSAI, C. T.; HUANG, Y. T.; CHEN, S. C.; CHANG, H. W.; LIN, E.; LIN, W. H.; HSEU, Y. C. Anti-metastatic activities of *Antrodia camphorata* against human breast cancer cells mediated through suppression of the MAPK signaling pathway. **Food and Chemical Toxicology**, v.49, p.290-298, 2011.

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

ZHANG, Y.; KONG, H.; FANG, Y.; NISHINARI, K.; PHILLIPS, G. O. Schizophyllan: A review on its structure, properties, bioactivities and recent developments. **Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre**, v. 1, p.53-71, 2013.

ZHENRIQUES-NORMARK, B.; TUOMANEN, E. I. The Pneumococcus: epidemiology, microbiology, and pathogenesis. **Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine**, v.3, p.1-15, 2013.

ZHOU, L.; ZHANG, Q.; ZHANG, Y.; LIU, J.; CAO, Y. The shiitake mushroom-derived immuno-stimulant lentinan protects against murine malaria blood-stage infection by evoking adaptive immune-responses. **International Immunopharmacology**, v.9, p.455-462, 2009.

ZIELNIK-JURKIEWICZ, B.; BIELICKA, A.; Antibiotic resistance of *Streptococcus pneumoniae* in children with acute otitis media treatment failure. **International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology**, v. 79, p.2129-2133, 2015.

ZJAWIONY, J. K. Biologically Active Compounds from Aphyllophorales (Polypore) Fungi. **Journal of Natural Products**, v.67, n.2, p. 300-310, 2004.