



Cultivo experimental de Basidiomicetos causadores de podridão branca da região Amazônica em diferentes substratos

Experimental culture of Basidiomycetes causing white rot fungi of the Amazon region in different substrates

Ceci Sales-Campos¹, Leise da Silva Pessoa², Maria Aparecida de Jesus³, Cristiane Vieira Helm⁴,
Olívia Gomes Martins⁵, Meire Andrade⁶

RESUMO: A tecnologia de cultivo de cogumelos na região Amazônica é pouco desenvolvida, embora a região apresente grande potencial para tal prática. O estudo teve como objetivo o cultivo experimental de novas linhagens de basidiomicetos amazônicos em diferentes substratos e temperaturas. As linhagens fúngicas utilizadas, provenientes do laboratório de Cultivo de Fungos Comestíveis da COTI/INPA, foram: *Pleurotus ostreatus*, *Boletus* sp., *Agaricales*, *Auricularia* sp., *Pleurotus djamor* var. *roseus* e *Agaricomycetes*. A matéria-prima para o preparo do substrato foi resíduos madeireiros: marupá (*Simarouba amara*) e cajuí (*Anacardium giganteum*), e agroindústriais: pseudocaule de bananeira (*Musa* sp.) da variedade Thap Maeo. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado em esquema fatorial 4 x 6 x 2 (4 substratos, 6 linhagens e 2 temperaturas), com 3 repetições cada, totalizando 144 unidades experimentais. O crescimento micelial foi mensurado diariamente, em duas temperaturas (25 e 30 °C), até a colonização total dos substratos pelos fungos. A Perda da Matéria Orgânica (PMO %) também foi avaliada. Os dados foram submetidos à análise de variância ANOVA, sendo as médias comparadas pelo teste de Tukey (5%). No crescimento volumétrico diário, observou-se que na maioria dos tratamentos as retas polinomiais apresentaram um crescimento similar apresentando picos de crescimento em alguns casos. Em relação à PMO (%), o substrato composto de cajuí, Thap Maeo e mistura de farelos obteve os maiores valores. As duas temperaturas testadas foram favoráveis ao desenvolvimento das linhagens. Todas as linhagens investigadas apresentaram afinidade pelos substratos testados, se desenvolvendo *in vitro*, podendo dessa forma serem utilizadas em estudos posteriores.

Palavras-chave: Crescimento micelial. Fungos. Serragem. Temperatura.

ABSTRACT: Technology for the culture of fungi in the Amazon region is highly deficit, even though the region has great potentiality. Current study analyzes the experimental production of new strains of Amazon basidiomycetes at different substrates and temperatures. Fungus strains, *Pleurotus ostreatus*, *Boletus* sp., *Agaricales*, *Auricularia* sp., *Pleurotus djamor* var. *roseus* and *Agaricomycetes* were retrieved from the laboratory for the Culture of Eatable Fungi of COTI/INPA. Prime matter for the preparation of the substrate were wood wastes: marupá (*Simarouba amara*) and cajuí (*Anacardium giganteum*), and agroindustrial wastes: pseudostem of the banana tree (*Musa* sp.) of the variety Thap Maeo. Randomized assay design comprised a factorial scheme 4 x 6 x 2 (4 substrates, 6 strains and 2 temperatures), with 3 replications each, totaling 144 experimental units. Mycelial growth was measured daily, at two temperatures (25 and 30°C), till total colonization of substrates by the fungi. Loss of organic matter (LOM %) was also evaluated. Data underwent analysis of variance ANOVA, and means compared by Tukey's test (5%). In most treatments polynomial lines showed a similar growth with hikes in some cases. In the case of LOM PMO (%), substrate of cajuí, Thap Maeo and mixture of bran had the highest rates. The two temperatures were positive for the strains'

¹ Pesquisadora do Laboratório de Cultivo de Fungos Comestíveis do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA), Manaus (AM), Brasil.

² Bolsista de iniciação científica do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA), Manaus (AM), Brasil.

³ Pesquisadora do Laboratório de Patologia da Madeira do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA), Manaus (AM), Brasil.

⁴ Pesquisadora da Embrapa Florestas, Colombo (PR), Brasil.

⁵ Doutoranda em Agronomia - Energia na Agricultura, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (UNESP), Botucatu (SP), Brasil.

⁶ Docente da Faculdade Gran Tietê, departamento de Engenharia Agrônômica, Barra Bonita (SP), Brasil.

development. All strains investigated had an affinity by tested substrates *in vitro* and could be employed in further studies.

Keywords: Fungi. Mycelial growth. Sawdust. Temperature.

Autor correspondente:
Meire Andrade: mcnandrade@hotmail.com

Recebido em: 18/03/2020
Aceito em: 21/09/2020

INTRODUÇÃO

Os fungos são seres heterotróficos, pois necessitam de um substrato para o fornecimento de energia e nutrientes para o seu desenvolvimento. Nutrem-se através do processo da absorção onde as enzimas secretadas por esses indivíduos hidrolisam macromoléculas tornando-as assimiláveis pela parede celular fúngica (TORTORA; FUNKE; CASE, 2017). Diversas espécies fúngicas são úteis em vários processos importantes para os seres vivos, tanto na alimentação para a fabricação de pães, queijos, vinhos quanto na produção de fármacos, biorremediação, biodiesel, e como fonte nutricional e nutracêutica (SILVA; MALTA, 2017).

Existem cerca de 3,8 milhões de espécies fúngicas, porém apenas 144 mil são conhecidas (CANNON *et al.*, 2018). Dentre essas espécies, estima-se que 2.000 podem ser utilizadas para o consumo (TRIERVEILER-PEREIRA; SULZBACHER; BALTAZAR, 2018). Dentre essas espécies, as mais apreciadas pelo mercado consumidor estão o *Agaricus bisporus* (Champignon de Paris), *Pleurotus ostreatus* (shimeji, hiratake) e *Lentinula edodes* (Shiitake), que são cultivadas e conhecidas no mundo todo (SARI *et al.*, 2017). Juntamente com outros basidiomicetos, que possuem enzimas capazes de degradar os polissacarídeos das paredes celulares dos tecidos vegetais, formam um grupo denominado “fungos de podridão branca”, pois degradam tanto a lignina quanto a celulose e hemicelulose presente no substrato (MENEZES; BARRETO, 2015). Importantes classes de enzimas são necessárias para degradar esses resíduos, como as lacases e manganês peroxidases (RABONATO *et al.*, 2015). Dessa forma, podem ser cultivados em vários tipos de resíduos lignocelulolíticos, tais como: capim elefante, bagaço de cana-de-açúcar, serragem, palha de arroz, palha de feijão, rama de mandioca, entre outros, enriquecidos ou não com farelos de cereais (MARTINS *et al.*, 2018).

Em relação à resposta ao seu interesse mundial, os cogumelos comestíveis possuem um importante valor nutricional, possuindo altos teores de proteínas, fibras, minerais e baixas quantidades de lipídeos. Além disso, possuem interesse farmacêutico e medicinal, servindo dentre outros, como antioxidantes, antitumorais e antimicrobianos (SILVA; JORGE, 2011).

O Brasil detém cerca de 20% da biodiversidade mundial, principalmente na floresta Amazônica, sendo uma fonte rica em matérias-primas nos mais variados setores. Porém, muito do

que é oferecido pela imensa diversidade biológica amazônica em relação aos seus micro-organismos e interações com outros seres ainda é desconhecido, fazendo-se necessárias pesquisas direcionadas aos cogumelos amazônicos e sua adaptação aos resíduos regionais (SOUZA *et al.*, 2004; SALES-CAMPOS, 2008). No entanto, antes de se iniciar o cultivo de cogumelos, principalmente aqueles que foram isolados recentemente de ambientes naturais, faz-se necessário o conhecimento acerca de seu comportamento fisiológico para melhor desenvolvimento em condições controladas.

Uma das principais formas de domesticação de linhagens novas é através do estudo do crescimento micelial, pois possibilita a descoberta de condições adequadas para o seu desenvolvimento, tais como temperatura, pH, composição do substrato, que podem posteriormente ser aplicadas ao cultivo em larga escala, possibilitando uma otimização do processo (CAVALLAZZI *et al.*, 2004; NYOCHEMBENG; BEYL; PACUMBABA, 2008). A avaliação deste parâmetro pode ser feita de diferentes formas, tais como crescimento radial, vigor, velocidade do crescimento e massa do micélio (ANDRADE *et al.*, 2010).

A tecnologia de cultivo de cogumelos comestíveis na região Amazônica ainda é pouco desenvolvida. Considerando-se que a região apresenta um grande potencial para tal prática, tornam-se necessárias pesquisas com tal finalidade, a fim de difundir o conhecimento gerado tornando o produto cada vez mais conhecido e acessível à população (SALES-CAMPOS; ANDRADE, 2011).

Dessa forma, esse trabalho teve como objetivo o cultivo experimental de novas linhagens de basidiomicetos amazônicos em diferentes substratos e temperaturas.

2 MATERIAL E MÉTODOS

As linhagens fúngicas que foram estudadas quanto a sua domesticação estão depositadas na micoteca do laboratório de Cultivo de Fungos Comestíveis da Coordenação de Tecnologia e Inovação do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (COTI/INPA), sendo estas: *Pleurotus ostreatus* (474), *Boletus* sp. (1232), *Agaricales* (1507), *Auricularia* sp. (1509), *Pleurotus djamor* var. *roseus* (1540) e *Agaricomycetes* (1541). O presente trabalho foi realizado no mesmo laboratório.

2.2 OBTENÇÃO DOS RESÍDUOS

Para a realização do experimento, foram utilizadas serragens de resíduos madeireiros: marupá (*Simarouba amara*) e cajuí (*Anacardium giganteum*) e agroindustrial: pseudocaule de bananeira da variedade thap maeo (AAB), gênero *Musa* sp.

A coleta e o processamento dos resíduos madeireiros foram realizados no laboratório de Cultivo de Fungos Comestíveis da Coordenação de Tecnologia e Inovação do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (COTI/INPA). Após o processamento dos mesmos, conforme Sales-Campos (2008), foram secos e acondicionados em container de 100L até a montagem dos experimentos.

Os resíduos de bananeira foram obtidos na Unidade Experimental da Embrapa Amazônia Ocidental.

O material coletado foi transportado para o COTI/INPA. Posteriormente, realizou-se o seu processamento no qual foram triturados em um picador de forrageira da marca DPM 4, 3.300 RPM, conforme metodologia descrita por Sales-Campos (2008). O material picado foi distribuído em telas e submetido à secagem natural. Após esse procedimento, armazenou-se em sacos de ráfia até o início dos experimentos.

2.2 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado em esquema fatorial 4 x 6 x 2 correspondente a 4 substratos (MA-TM-FT: substrato elaborado a partir de serragem de marupá + pseudocaule de thap-maeo + farelo de trigo; MA-TM-MFR: elaborado a partir de serragem de marupá + pseudocaule de thap-maeo + mistura de farelos; CAJ-TM-FT: elaborado a partir de serragem de cajú + pseudocaule de thap-maeo + farelo de trigo; CAJ-TM-MFR: elaborado a partir de serragem de cajú + pseudocaule de thap-maeo + mistura de farelos); 6 linhagens (*Pleurotus ostreatus* (474), *Boletus* sp. (1232), *Agaricales* (1507), *Auricularia* sp. (1509), *Pleurotus djamor* var. *roseus* (1540) e *Agaricomycetes* (1541)) e 2 temperaturas (25 °C e 30 °C), com 3 repetições cada, totalizando 144 unidades experimentais (Quadro 1).

Quadro 1. Delineamento experimental 4 x 6 x 2 utilizado no experimento

SUBSTRATO	LINHAGEM	TEMPERATURA
MA-TM-FT	<i>Pleurotus ostreatus</i> (474)	25 °C 30 °C
MA-TM-MFR	<i>Boletus</i> sp. (1232)	
CAJ-TM-FT	<i>Agaricales</i> (1507)	
CAJ-TM-MFR	<i>Auricularia</i> sp. (1509)	
	<i>P. djamor</i> var. <i>roseus</i> (1540)	
	<i>Agaricomycetes</i> (1541)	

MA (serragem de marupá); TM (pseudocaule de thap maeo); CAJ (serragem de cajú); FT (farelo de trigo); MFR (mistura de farelos).

2.3 INÓCULO

Para a produção de inóculo (matriz secundária), utilizou-se uma matriz primária das linhagens *Pleurotus ostreatus* (474), *Boletus* sp. (1232), *Agaricales* (1507), *Auricularia* sp. (1509), *Pleurotus djamor* var. *roseus* (1540) e *Agaricomycetes* (1541), provenientes do laboratório de Cultivo de Fungos Comestíveis da COTI/INPA, conservadas em óleo mineral. Em condições totalmente assépticas, discos de inóculos dessas linhagens foram transferidos de tubos de ensaios para placas de *Petri* contendo meio Malte (BONONI *et al.*, 1999), as quais foram incubadas a 25 °C, na ausência de luz (SALES-CAMPOS, 2008). Para ativação do micélio, o fungo colonizou todo o meio em torno de 5 dias.

2.4 PREPARO DO SUBSTRATO E MONTAGEM DO EXPERIMENTO

A formulação do substrato foi feita utilizando-se resíduos de serragem e de pseudocaule de Thap Maeo na proporção 1:1 suplementados com 30% de farelo de cereais e adicionando-se 2% de CaCO₃ com a finalidade de ajustar o pH do substrato (Quadro 2).

Quadro 2. Formulação dos substratos utilizados no experimento

SUBSTRATO	RESÍDUOS	SUPLEMENTAÇÃO
MA-TM-FT	Marupá + Pseudocaule de Thap Maeo (1:1)	30% de Farelo de Trigo
MA-TM-MFR		30% de Mistura de Farelo (arroz, trigo e milho)
CAJ-TM-FT	Cajuí + Pseudocaule de Thap Maeo (1:1)	30% de Farelo de Trigo
CAJ-TM-MFR		30% de Mistura de Farelo (arroz, trigo e milho)

MA-TM-FT: substrato elaborado a partir de serragem de marupá + pseudocaule de thap-maeo + farelo de trigo; MA-TM-MFR: elaborado a partir de serragem de marupá + pseudocaule de thap-maeo + mistura de farelos; CAJ-TM-FT: elaborado a partir de serragem de cajuí + pseudocaule de thap-maeo + farelo de trigo; CAJ-TM-MFR: elaborado a partir de serragem de cajuí + pseudocaule de thap-maeo + mistura de farelos.

Para o preparo do substrato, em um recipiente limpo, o mesmo foi feito de forma individualizada, de acordo com as formulações. A mistura composta de 68% de resíduo + mais 30% de farelo de cereais + 2% de CaCO₃ foi adicionada de água destilada até que o teor de umidade atingisse 75%. Os substratos foram acondicionados em frascos de vidro com capacidade para 500 mL. Em seguida os mesmos foram esterilizados em uma temperatura de 121 °C durante 60 minutos.

2.5 INOCULAÇÃO E INCUBAÇÃO DOS SUBSTRATOS

Após o resfriamento do substrato, cada frasco de vidro foi pesado e, em câmara de fluxo laminar, com o auxílio de uma espátula, 4 discos de inóculos com 9 mm de diâmetro da colônia das linhagens anteriormente preparadas foram inseridos em cada frasco na direção de quatro retas perpendiculares entre si. Posteriormente foram distribuídos aleatoriamente nas duas incubadoras tipo BOD ajustada a 25 e 30 °C conforme tratamentos descritos anteriormente (Quadro 1).

2.6 AVALIAÇÃO DA VELOCIDADE DO CRESCIMENTO E TEMPO DE COLONIZAÇÃO

Para avaliação do crescimento micelial volumétrico foram colocadas na parte externa dos frascos quatro fitas milimétricas dispostas de maneira equidistante para mensurar o crescimento diário. Para avaliar a velocidade de crescimento dos fungos nos diferentes substratos, fez-se a mensuração do crescimento micelial diariamente até a colonização total dos substratos pelos fungos. Para comparação da velocidade de crescimento (cm³/dia), os dados foram coletados quando um dos fungos atingisse o fundo do frasco. As médias do crescimento micelial volumétrico foram obtidas através do cálculo de volume cilíndrico do meio sólido colonizado ($\pi \times r^2 \times H$) e a velocidade média foi avaliada pela razão entre o volume médio do crescimento e o tempo gasto para que ocorresse tal crescimento. Avaliou-se o tempo de colonização dos fungos nos diferentes substratos.

2.7 VIGOR MICELIAL NOS DIFERENTES SUBSTRATOS E TEMPERATURAS

Para esta análise, utilizou-se uma escala subjetiva para a interpretação dos resultados: * = fraco, ** = regular, *** = bom, **** = intenso.

2.8 PERDA DE MATÉRIA ORGÂNICA

Para o cálculo de porcentagem da perda de matéria orgânica (PMO), os substratos colonizados foram secos e pesados diariamente até obterem um peso constante para, em seguida, serem comparados com os pesos de substratos que não foram colonizados pelos fungos (controle). Para o cálculo dessa variável foi utilizada a fórmula:

$$PMO (\%) = \frac{\text{Massa do substrato seco inicial} - \text{Massa do substrato residual}}{\text{Massa do substrato seco inicial}} \times 100$$

2.9 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados dos experimentos, mais os resultados da variável PMO, foram submetidos à análise de variância ANOVA, utilizando o programa estatístico SISVAR 4.2 desenvolvido pelo Departamento de Ciências Exatas, da Universidade Federal de Lavras (UFLA) (FERREIRA, 2003), sendo as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. As análises de regressão polinomial foram realizadas através do programa ORIGIN 8.6 da MicroCal (MICROCAL, 2011).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O tempo de observação teve uma duração de 16 dias, até o primeiro fungo atingir o fundo do frasco.

Para avaliar a velocidade do crescimento micelial (cm^3/dia), os fungos em estudo foram incubados em duas temperaturas distintas de 25 e 30 °C.

Segundo Athayde e colaboradores (2010), dentre os fatores que influenciam o crescimento micelial de fungos produtores de cogumelos comestíveis, a temperatura é um dos mais importantes.

As figuras 1 e 2 permitem observar a avaliação da velocidade de crescimento das linhagens nas temperaturas de 25 e 30 °C respectivamente.

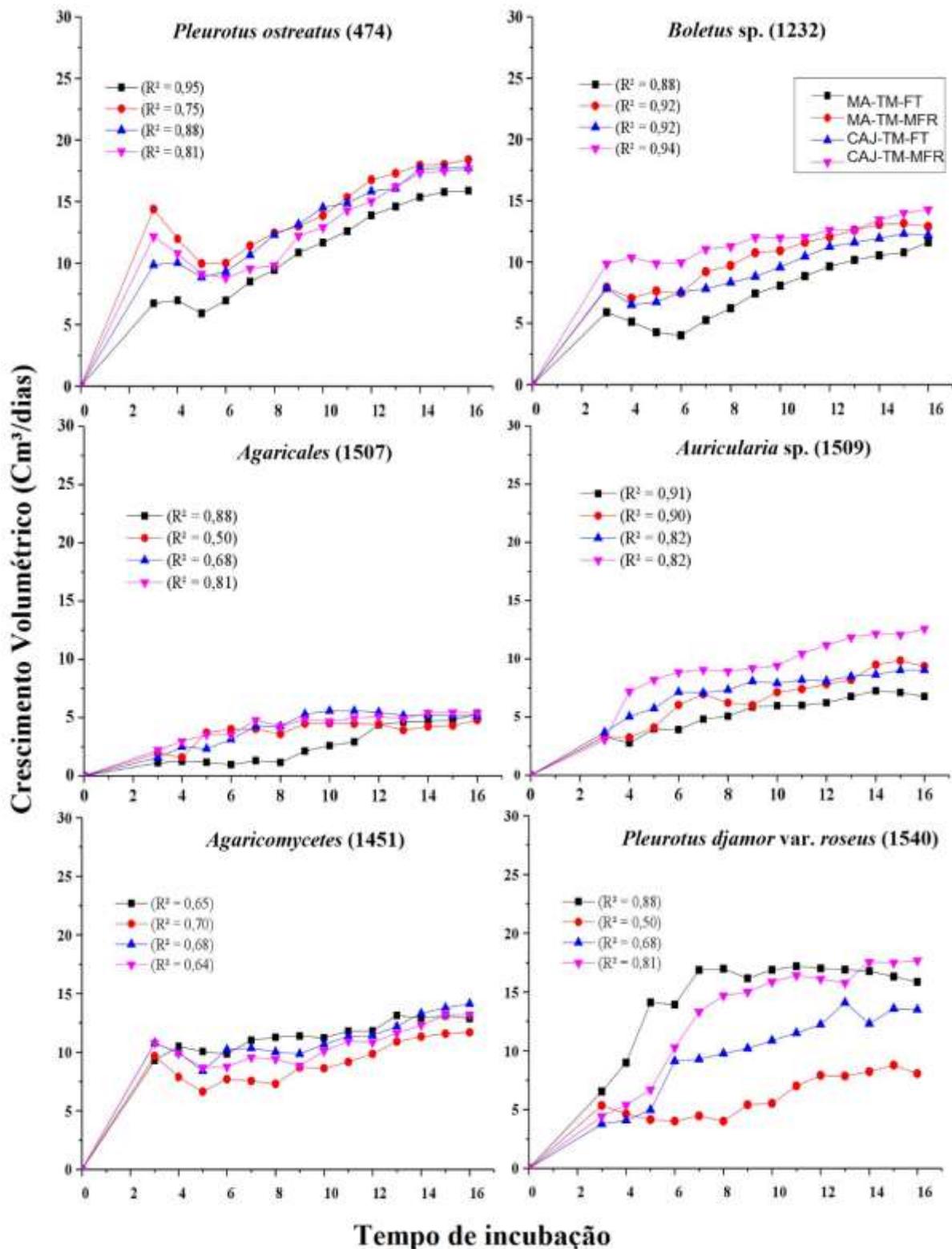


Figura 1. Velocidade de Crescimento (cm³/dia) dos fungos *Pleurotus ostreatus* (474), *Boletus* sp. (1232), *Agaricales* (1507), *Auricularia* sp. (1509), *Agaricomycetes* (1541) e *Pleurotus djamor* var. *roseus* (1540) em diferentes substratos incubados a uma temperatura de 25 °C

Na avaliação do crescimento volumétrico diário, observou-se que o fungo *P. ostreatus* (474) apresentou uma velocidade de crescimento similar em todos os tratamentos, observando-se um pico de crescimento no terceiro dia de incubação, e menores médias de crescimento no 5º dia, tornando-se novamente crescente no 6º dia de observação.

Analisando-se a espécie do gênero *Boletus* sp. (1232), a partir do 8º dia de incubação, o mesmo apresentou um desenvolvimento similar em todos os substratos analisados, observando-se poucos picos de crescimento.

Na avaliação do crescimento da linhagem pertencente ao gênero *Auricularia* sp., observou-se uma maior velocidade de crescimento no tratamento CAJ-TM-MFR e uma menor taxa de crescimento no tratamento MA-TM-FT. Os demais tratamentos apresentaram um crescimento homogêneo entre si.

Já Sales-Campos *et al.* (2008) obtiveram resultados bastante satisfatórios ao avaliar o crescimento micelial radial (mm) de *P. ostreatus* em meio de cultura a base de serragem de marupá, obtendo um rápido crescimento.

Oscilações de crescimento foram observadas na espécie de *Agaricomycetes* (1541), sendo que o mesmo apresentou picos leves de aumento e redução na velocidade de crescimento.

Em relação ao *P. djamor* var. *roseus* (1540), no tratamento MA-TM-FT, o mesmo apresentou uma maior tendência de crescimento, porém diminuiu sua velocidade a partir do 12º dia de avaliação. A menor média de crescimento foi observada no tratamento MA-TM-MFR, apresentando uma menor velocidade ao longo dos dias avaliados. Já a espécie fúngica da ordem *Agaricales*, na maioria dos tratamentos, observou-se uma velocidade de crescimento homogênea, com exceção do tratamento MA-TM-FT que obteve menores médias entre o 5º e 11º dias de avaliação.

Diferentes comportamentos de crescimento entre fungos também foram observadas por Bilay, Solomko e Buchalo (2000) que, ao avaliarem o crescimento de 30 isolados de cogumelos comestíveis em diferentes meios de cultura, entre as linhagens de *Pleurotus calypratus*, *Pleurotus dryinus*, *Pleurotus eryngii* e *Pleurotus ostreatus*, concluíram que o crescimento micelial das espécies estudadas é diferente e depende do tipo de substrato.

Menores taxas de crescimento foram observadas pelo fungo pertencente à ordem *Agaricales* (1507), que se comportou da mesma forma na maioria dos tratamentos, apresentando retas paralelas e sobrepostas, com exceção do tratamento MA-TM-FT, que entre o 3º e 11º dia de incubação ocorreu uma diminuição na velocidade de crescimento.

Na Figura 2, pode-se observar a avaliação da velocidade de crescimento na temperatura de incubação de 30 °C.

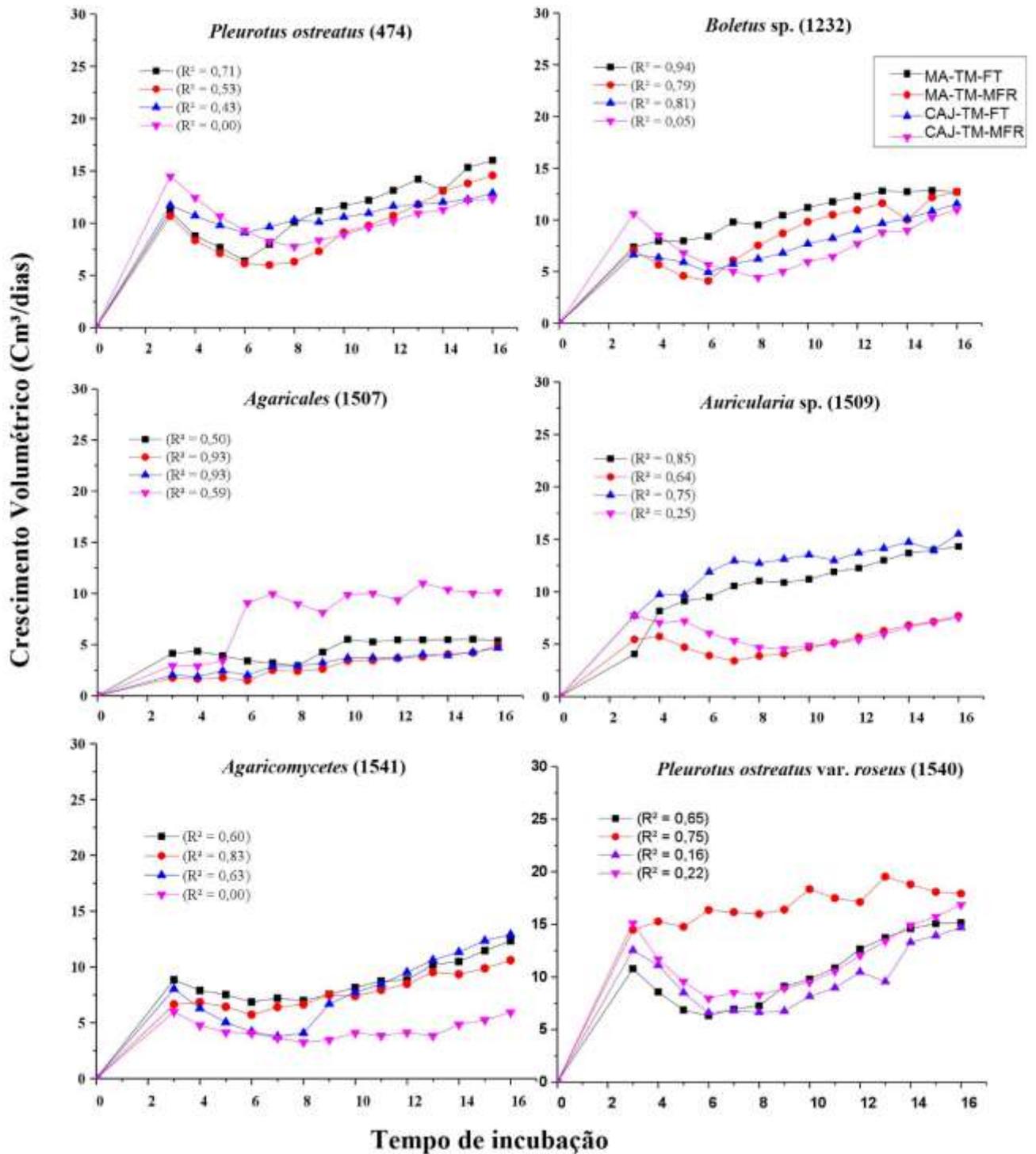


Figura 2. Velocidade de Crescimento (cm³/dia) dos fungos *Pleurotus ostreatus* (474), *Boletus* sp. (1232), *Agaricales* (1507), *Auricularia* sp. (1509), *Agaricomycetes* (1541) e *Pleurotus djamor* var. *roseus* (1540) em diferentes substratos incubados a uma temperatura de 30 °C.

Ao avaliar a velocidade do crescimento das linhagens fúngicas a 30 °C, observou-se que tanto as linhagens de *P. ostreatus* (474) e de *Boletus* sp. (1232) apresentaram um crescimento micelial paralelo, porém não coincidente, demonstrando que ambas linhagens tiveram um comportamento similar em todos os tratamentos testados. Já em relação ao fungo pertencente à ordem *Agaricales* (1507) foi observada uma maior tendência de crescimento no tratamento CAJ-TM-MFR, porém observaram-se picos no crescimento. Os demais tratamentos apresentaram médias de crescimento similares.

Maiores taxas de crescimento nos tratamentos MA-TM-FT e CAJ-TM-MFR também foram obtidas pela espécie fúngica do gênero *Auricularia*, porém os demais tratamentos proporcionaram médias de crescimento inferiores. Ao contrário do fungo da classe *Agaricomycetes*, que apresentou menor velocidade de crescimento no tratamento CAJ-TM-MFR. Já nos demais substratos, observou-se uma similaridade na curva de crescimento.

O fungo *P. djamor* var. *roseus* (1540) apresentou uma maior taxa de crescimento no tratamento MA-TM-MFR. Nos demais, verificou-se um comportamento similar entre eles, havendo uma diminuição na velocidade entre o 5º e 9º dia de incubação, voltando a aumentar a partir do 10º dia, com exceção do tratamento CAJ-TM-FT, que apresentou uma menor taxa de crescimento no 13º dia.

Sales-Campos e Andrade (2011), ao utilizarem resíduos madeireiros e agroindustriais para avaliar o crescimento micelial de *P. ostreatus* e *Lentinula edodes*, observaram que os meios de cultura a base de serragem de marupá e cajuí foram bastante satisfatórios para ambas linhagens.

Semelhante aos resultados obtidos, Dias *et al.* (2003), ao avaliarem a produção de *Pleurotus sajor-caju* em diferentes resíduos agrícolas (palha de feijão, palha de milho e casca de café com e sem enriquecimento), observaram que o crescimento micelial variou de acordo com o composto utilizado.

Os dados médios do crescimento volumétrico dos fungos *Pleurotus ostreatus* (474), *Boletus* sp. (1232), *Agaricales* (1507), *Auricularia* sp. (1509), *Pleurotus djamor* var. *roseus* (1540) e *Agaricomycetes* (1541) estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1. Velocidade de Crescimento (cm³/dia) dos fungos *P. ostreatus* (474), *Boletus* sp. (1232), *Agaricales* (1507), *Auricularia* sp. (1509), *Agaricomycetes* (1541) e *P. djamor* var. *roseus* (1540) em diferentes substratos incubados duas temperaturas (25 e 30 °C), após 16 dias de incubação

LINHAGENS	SUBSTRATO							
	MA-TM-FT		MA-TM-MFR		CAJ-TM-FT		CAJ-TM-MFR	
	25 °C	30 °C	25 °C	30 °C	25 °C	30 °C	25 °C	30 °C
<i>P. ostreatus</i> (474)	15,88 ^{Aa}	16,00 ^{Aa}	18,40 ^{Aa}	14,57 ^{Aab}	17,75 ^{Aa}	12,87 ^{Aab}	17,64 ^{Aa}	12,3 ^{Aab}
<i>Boletus</i> sp. (1232)	11,59 ^{Aab}	12,70 ^{Aa}	12,89 ^{Aab}	12,70 ^{Aabc}	12,18 ^{Aabc}	11,54 ^{Aab}	14,27 ^{Aa}	10,96 ^{Aab}
<i>Agaricales</i> (1507)	5,37 ^{Ab}	5,37 ^{Aa}	4,78 ^{Ab}	4,89 ^{Ac}	5,10 ^{Abc}	4,68 ^{Ab}	5,39 ^{Ab}	10,14 ^{Aab}
<i>Auricularia</i> sp. (1509)	6,76 ^{Ab}	14,31 ^{Aa}	9,36 ^{Ab}	7,71 ^{Abc}	9,04 ^{Ac}	15,52 ^{Aa}	12,56 ^{Aab}	7,53 ^{Ab}
<i>P. djamor</i> var. <i>roseus</i> (1540)	15,86 ^{ABa}	15,15 ^{ABa}	8,05 ^{Bb}	17,92 ^{Aa}	13,49 ^{ABab}	14,69 ^{ABa}	17,68 ^{Aa}	16,85 ^{ABa}
<i>Agaricomycetes</i> (1541)	12,85 ^{Aab}	12,34 ^{Aa}	11,70 ^{Aab}	10,59 ^{Aabc}	14,14 ^{Aab}	12,91 ^{Aab}	13,22 ^{Aab}	5,96 ^{Bb}

Médias seguidas de letras iguais, maiúsculas em cada linha e minúsculas em cada coluna não diferem entre si pelo teste Tukey, ao nível de 5% de significância ($p < 0,05$).

Comparando o crescimento volumétrico de cada fungo dentro de cada substrato, observou-se que a maior média de crescimento (18,40 mm³) obtida pela linhagem 1540 de *P. ostreatus* foi observada no tratamento MA-TM-MFR a 25 °C, não diferindo significativamente entre os demais tratamentos. A linhagem de *Boletus* sp. também apresentou maior afinidade pelo substrato do tratamento MA-TM-MFR a 25 °C (12,89 mm³), também não apresentando interações significativas entre os outros substratos. Analisando o fungo da ordem *Agaricales*, a maior média de crescimento (10,14 mm³) foi observada no tratamento CAJ-TM-MFR a 30 °C, porém não diferiu-se significativamente dos demais tratamentos. Já a linhagem de *Auricularia* sp. apresentou maior média de crescimento (15,52 mm³) no tratamento CAJ-TM-FT a 30 °C, também não apresentando interações significativas entre os outros tratamentos. Em relação à linhagem 1540 de *P. djamor* var. *roseus*, a maior média de crescimento volumétrico foi obtida no tratamento MA-TM-MFR a 30 °C, diferindo-se significativamente de MA-TM-MFR a 25 °C. Já a linhagem 1541 de *Agaricomycetes* apresentou um maior crescimento volumétrico (14,14 mm³) no tratamento CAJ-TM-FT a 25 °C, diferindo-se significativamente de CAJ-TM-MFR a 30 °C (5,96 mm³).

Gomes-da-Costa, Coimbra e Silva (2008), ao utilizarem substratos lignocelulolíticos para o crescimento micelial de duas linhagens de *Lentinula edodes*, obtiveram resultados que variaram de acordo com o tipo de substratos e a linhagem da espécie estudada. Diferenças significativas entre as diferentes composições dos meios de cultura testados e o desenvolvimento micelial do fungo foram observadas por Andrade, Minhoni e Zied (2008) ao realizar a avaliação do crescimento micelial de *L. edodes* em extratos de dez tipos de eucalipto.

Comparando-se o crescimento micelial entre as linhagens, no tratamento MA-TM-FT tanto na temperatura de 25 °C quanto na de 30 °C, foi a linhagem 474 de *P. ostreatus* que apresentou maiores médias de crescimento volumétrico (15,88 mm³ e 16,00 mm³ respectivamente).

Em relação à MA-TM-MFR a 25 °C quem sobressaiu foi também o *P. ostreatus* (18,40 mm³), no tratamento MA-TM-MFR a 30 °C, quem apresentou uma maior afinidade pelo substrato foi o *P. djamor* var. *roseus* (17,92 mm³).

Já no substrato CAJ-TM-FT a 25 °C, também foi o *P. ostreatus* que apresentou a maior velocidade de crescimento (17,75 mm³), avaliando o mesmo substrato (CAJ-TM-FT), porém com a temperatura de 30 °C, o fungo que obteve um crescimento mais rápido foi o de *Auricularia* sp. (15,52 mm³).

Analisando o tratamento CAJ-TM-MFR, o *P. djamor* var. *roseus* apresentou a maior velocidade de crescimento nas duas temperaturas de incubação (17,68 mm³ em 25 °C e 16,85 mm³ em 30 °C).

Comparando as duas temperaturas de incubação testadas no experimento, observa-se que não houve interações significativas entre ambas, com exceção da linhagem 1541 de *Agaricomycetes*, que preferiu a temperatura de 25 °C.

Outro parâmetro utilizado para estimar o comportamento do fungo em relação aos substratos é o vigor micelial (Quadro 3).

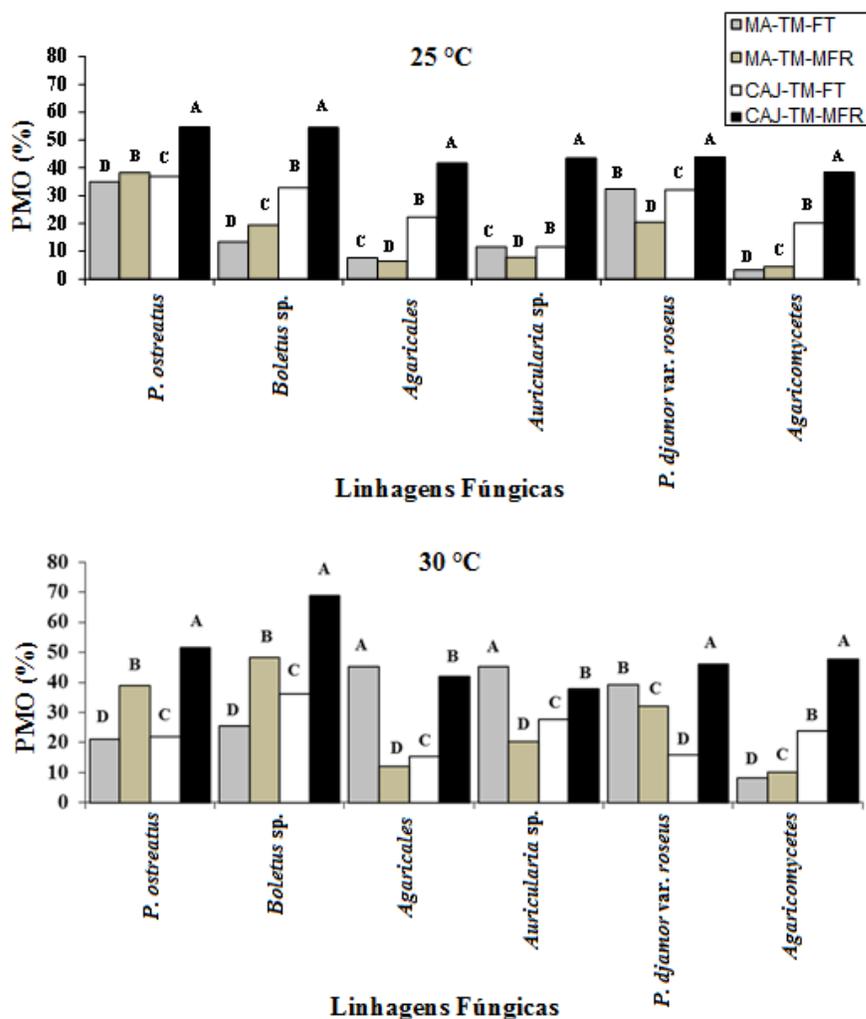
Quadro 3. Escala subjetiva de vigor do crescimento micelial em diferentes substratos a base de resíduos madeireiros, incubados nas temperaturas de 25 e 30 °C

LINHAGENS	VIGOR/SUBSTRATO							
	MA-TM-FT		MA-TM-MFR		CAJ-TM-FT		CAJ-TM-MFR	
	25 °C	30 °C	25 °C	30 °C	25 °C	30 °C	25 °C	30 °C
<i>P. ostreatus</i>	****	****	****	****	****	****	****	****
<i>Boletus</i> sp.	**	**	**	**	**	**	**	**
<i>Agaricales</i>	*	*	*	*	*	*	*	*
<i>Auricularia</i> sp.	***	***	***	***	***	***	***	***
<i>P. djamor</i> var. <i>roseus</i>	****	****	****	****	****	****	****	***
<i>Agaricomycetes</i>	*	*	*	*	*	*	*	*

Classificação do vigor: * - fraco; ** - regular; *** - bom; **** - intenso.

Analisando o vigor micelial dos fungos em relação aos tratamentos, observou-se que as linhagens de *P. ostreatus* e *P. djamor* var. *roseus* apresentaram um vigor intenso em todos os tratamentos, enquanto as linhagens de *Agaricales* e *Agaricomycetes* apresentaram um vigor fraco.

A perda da matéria orgânica ocorre devido à decomposição do substrato por meio do metabolismo do fungo (MARTINS *et al.*, 2018). O resultado dessa análise pode ser observado na Figura 3.



Médias de comparação dos tratamentos em cada linhagem com letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância.

Figura 3. PMO - Perda de Matéria Orgânica (%) obtida dos fungos *Pleurotus ostreatus* (474), *Boletus sp.* (1232), *Agaricales* (1507), *Auricularia sp.* (1509), *Pleurotus djamon var. roseus* (1540) e *Agaricomycetes* (1541) em diferentes substratos incubados a temperaturas de 25 e 30 °C

Analisando a Perda da Matéria Orgânica (PMO %), observou-se que em todas as linhagens testadas o tratamento que apresentou maiores valores foi o CAJ-TM-MFR, em ambas temperaturas, apresentando diferenças significativas entre os demais tratamentos. A única exceção foi na temperatura de 30 °C, em que nas linhagens de *Agaricales* e *Auricularia sp.* a maior PMO foi obtida no tratamento MA-TM-FT.

Resultados semelhantes foram obtidos por Sales-Campos, Minhoni e Andrade (2010), que avaliaram a PMO (%) dos substratos colonizados por *P. ostreatus*. Os substratos utilizados foram a base de serragem de marupá, pau-de-balsa e serragem de cana-de-açúcar; neste experimento, obteve-se um maior valor de PMO no substrato a base de serragem de marupá.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

As duas temperaturas testadas (25 °C e 30 °C) foram favoráveis ao desenvolvimento das linhagens do estudo pois desenvolveram-se em ambas.

Todas as linhagens investigadas apresentaram afinidade pelos substratos testados, dessa forma pode-se sugerir que a pesquisa alcançou resultados satisfatórios, pois linhagens que nunca haviam sido colonizadas *in vitro*, se adaptaram a tal condição, podendo dessa forma serem utilizadas em estudos posteriores associando-as aos mesmos substratos.

5 AGRADECIMENTOS

Ao Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia - INPA, à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES, à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Amazonas - FAPEAM e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq.

REFERÊNCIAS

ANDRADE, M. C. N.; CHAVARI, J. L.; MINHONI, M. T. A.; ZIED, D. C. Crescimento micelial *in vitro* de cinco linhagens de *Agaricus bisporus* submetidas a diferentes condições de temperatura. **Acta Scientiarum Agronomy**, v. 32, n. 1, p. 69-72, 2010.

ANDRADE, M. C. N.; MINHONI, M. T. A.; ZIED, D. C. Avaliação nutricional do cogumelo shiitake [*Lentinula edodes* (Berk.) Pegler] em função da linhagem e do tipo de eucalipto cultivado. **Food Science and Technology**, v. 28, n. 4, p. 916-921, 2008.

ATHAYDE, M. B.; ZIED, D. C.; MINHONI, M. T. A.; ANDRADE, M. C. N. Influência da temperatura no crescimento micelial de linhagens de *Lentinula edodes*. **Ambiência**, v. 6, n. 3, p. 503-509, 2010.

BILAY, V. T.; SOLOMKO, E. F.; BUCHALO, A. S. Growth of edible and medicinal mushrooms on commercial agar media. In: VAN GRIENSVEN, L. J. L. D. **Science and cultivation of edible fungi**. Rotterdam: Balkema, 2000. p. 779-782.

- BONONI, V. L.; CAPELARI, M.; MAZIERO, R.; TRUFEM, S. F. B. S. **Cultivo de cogumelos comestíveis**. 2. ed. São Paulo: Ícone, 1999.
- CANNON, P. F.; AGUIRRE-HUDSON, B.; AIME, M. C.; AINSWORTH, A. M.; BIDARTONDO, M. I.; GAYA, E.; HAWKSWORTH, D.; KIRK, P.; LEITCH, I.; LÜCKING, R. **State of the World's Fungi**. Kew: Royal Botanic Gardens, 2018.
- CAVALLAZZI, J. R. P.; BRITO, M. S.; OLIVEIRA, M. G. A.; VILLAS-BÔAS, S. G.; KASUYA, M. C. M. Lignocellulolytic enzymes profile of three *Lentinula edodes* (Berk.) Pegler strains during cultivation on eucalyptus bark-based medium. **Food, Agriculture and Environment**, v. 2, n. 1, p. 291-297, 2004.
- DIAS, E. S.; KOSHIKUMO, E. M. S.; SCHWAN, R. F.; SILVA, R. da. Cultivo do cogumelo *Pleurotus sajor-caju* em diferentes resíduos agrícolas. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 27, n. 6, p. 1363-1369, 2003.
- FERREIRA, D. F. **SISVAR versão 4.2**. Lavras: Dex/UFLA, 2003.
- GOMES-DA-COSTA, S. M.; COIMBRA, L. B.; SILVA, E. S. da. Crescimento micelial de dois isolados de *Lentinula edodes* (Berk.) Pegler, em resíduos ligninocelulósicos. **Acta Scientiarum Biological Sciences**, v. 30, n. 2, p. 191-196, 2008.
- MARTINS, O. G. M.; ABILIO, D. P.; SIQUEIRA, O. A. P. A.; RONCHESEL, M.; ANDRADE, M. C. N. Sobra de alimentos como alternativa para a formulação de novos substratos para o cultivo de *Pleurotus ostreatus* (*Basidiomycota*, *Fungi*). **Revista em Agronegócio e Meio Ambiente**, v. 11, n. 2, p. 505-518, 2018.
- MENEZES, C. R.; BARRETO, A. R. Biodegradação de resíduos linocelulósicos por fungos basidiomicetos: Caracterização dos resíduos e estudo do complexo enzimático fúngico. **Revista Eletrônica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental**, v. 19, n. 2, p. 1365-1391, 2015.
- MICROCAL. **Origin 8.6**. Northampton: Microcal Software Inc., 2011.
- NYOCHEMBENG, L. M.; BEYL, C. A.; PACUMBABA, R. P. Optimizing edible fungal growth and biodegradation of inedible crop residues using various cropping methods. **Bioresource technology**, v. 99, n. 13, p. 5645-5649, 2008.
- RABONATO, A. C.; MINHONI, M. T. A.; CERVEZAN, T. C. M.; BONFIM, F. P. G.; DUARTE, M. C. T. Determinação do teor de glicose em bagaço de cana-de-açúcar hidrolizado pelo processo de conversão enzimática. **Energia na Agricultura**, v. 30, n. 1, p. 11-19, 2015.
- SALES-CAMPOS, C. **Aproveitamento de resíduos madeireiros e da agroindústria regional para o cultivo de fungos comestíveis de ocorrência na Região Amazônica**. 2008. 183f. Tese (Doutorado em Biotecnologia) Universidade Federal do Amazonas - UFAM, Manaus, 2008.

SALES-CAMPOS, C.; MINHONI, M. T. A.; ANDRADE, M. C. N. Produtividade de *Pleurotus ostreatus* em resíduos da Amazônia. **Interciência**, v. 35, n. 3, p. 198-201, 2010.

SALES-CAMPOS, C.; ANDRADE, M. C. N. Aproveitamento de resíduos madeireiros para o cultivo do cogumelo comestível *Lentinus strigosus* de ocorrência na Amazônia. **Acta Amazonica**, v. 41, n. 1, p. 1-8, 2011.

SALES-CAMPOS, C.; EIRA, A. F.; DE JESUS, M. A.; CAMPAGNOLLI, F.; ANDRADE, M. C. N. Crescimento micelial de *Pleurotus ostreatus* em resíduo de Simarouba amara. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 43, n. 11, p. 1633-1635, 2008.

SARI, M.; PRANGE, A.; LELLEY, J. I.; HAMBITZER, R. Screening of beta-glucan contents in commercially cultivated and wild growing mushrooms. **Food Chemistry**, v. 216, p. 45-51, 2017.

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

SILVA, C. J. A.; MALTA, D. J. N. A importância dos fungos na biotecnologia. **Caderno de Graduação - Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 2, n. 3, p. 49, 2017.

SOUZA, A. Q. L.; SOUZA, A. D. L.; ASTOLFI FILHO, S.; PINHEIRO, M. L. B.; SARQUIS, M. I. M.; PEREIRA, J. O. Atividade antimicrobiana de fungos endofíticos isolados de plantas tóxicas da Amazônia: *Palicourea longiflora* (aubl.) rich e *Strychnos cogens bentham*. **Acta Amazonica**, v. 34, n. 2, p. 185-195, 2004.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. **Microbiologia**. 12. ed. Porto Alegre: Artmed, 2017.

TRIERVEILER-PEREIRA, L.; SULZBACHER, M. A.; BALTAZAR, J. M. Diversidade de fungos brasileiros e alimentação: o que podemos consumir?. *In*: FÓRUM AMBIENTAL DE ANGATUBA, 3, 2018, Angatuba. **Anais [...]** Angatuba: Escola Planeta, 2018.