

**UEA**

UNIVERSIDADE  
DO ESTADO DO  
AMAZONAS

**UNIVERSIDADE DO ESTADO DO AMAZONAS**  
**ESCOLA NORMAL SUPERIOR - ENS**  
**CURSO DE LICENCIATURA EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

**CLEUDIANE PEREIRA DE ANDRADE**

**MEIOS DE CULTURA ALTERNATIVOS PARA PRODUÇÃO DE BIOMASSA DE**  
*Pleurotus eryngii.*

**Manaus – AM**

**2017**

**CLEUDIANE PEREIRA DE ANDRADE**

**MEIOS DE CULTURA ALTERNATIVOS PARA PRODUÇÃO DE BIOMASSA DE  
*Pleurotus eryngii*.**

Monografia apresentada como pré-requisito para conclusão do Curso de Licenciatura em Ciências Biológicas da Universidade do Estado do Amazonas – UEA.

Orientador(a) Prof<sup>a</sup> Dra. Larissa Kirsch

**Manaus – AM**

**2017**

### Ficha Catalográfica

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Andrade, Cleudiane Pereira

A553m Meios de Cultura alternativos para produção de  
Biomassa de *Pleurotus eryngii* / Cleudiane Pereira  
Andrade. 2017

34 f.: il. color; 31 cm.

Orientadora: Larissa de Souza Kirsch

TCC de Graduação (Licenciatura em Ciências Biológicas) -  
Universidade do Estado do Amazonas.

1. Cogumelos comestíveis. 2. Fermentação submersa. 3.  
Vegetais amazônicos. 4. Biomassa micelial. I. Kirsch, Larissa  
de Souza II. Universidade Federal do Amazonas III. Título

CLEUDIANE PEREIRA DE ANDRADE

**MEIOS DE CULTURA ALTERNATIVOS PARA PRODUÇÃO DE BIOMASSA DE**  
*Pleurotus eryngii.*

Monografia apresentada à Universidade do Estado do Amazonas como requisito para graduação em Ciências Biológicas.

DATA DE APROVAÇÃO: Manaus – AM, \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_.

**BANCA EXAMINADORA**

---

**Orientador (a)**

**Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Larissa de Souza Kirsch**  
**Universidade do Estado do Amazonas (UEA)**

---

**Membro Titular I**

**Prof<sup>o</sup> Dr<sup>a</sup> Mircella Marialva Alecrim**  
**Universidade Federal do Amazonas (UFAM)**

---

**Membro Titular II**

**Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Ieda Hortêncio Batista**  
**Universidade do Estado do Amazonas (UEA)**

---

**Suplente**

**Prof<sup>o</sup> Dr<sup>o</sup> Salomão Rocha Martim**  
**Faculdade Estácio do Amazonas**

Aos meus pais, Alvino Andrade (*in memory*) e Ofélia com todo o meu amor,

**Dedico.**

## AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo seu amparo, seu infinito amor e misericórdia, e por todo o seu cuidado e fidelidade constante.

À minha querida orientadora Dra. Larissa Kirsch, pelos ensinamentos, por não hesitar em dividir comigo sua experiência profissional e conversas de vida, e claro, pela coragem em me adotar.

Ao laboratório de Pós Graduação em Biotecnologia e Recursos Naturais da Universidade do Estado do Amazonas, pelo espaço concedido para realização dos experimentos.

Aos meus pais, Alvino e Ofélia, por virem de tão longe pela minha educação, por escolherem deixar para trás todas as suas conquistas, para de repente apostar nas minhas, e aos meus irmãos pela torcida.

Ao meu querido Hermínio Negreiros por tanto incentivo emocional e recursal durante este percurso.

Aos amigos em especial Bruna Frazão (pela paciência ilimitada), Itamara Lima, Alessandra Rodrigues e Dayane Monteiro por todo apoio, amizade e pelos momentos compartilhados.

Aos colegas de laboratório, Kelly Soares e Thayane Felícia pela ajuda com os experimentos sempre que me viram de mãos atadas.

A Valéria de Santos Carvalho Ebinuma pela disponibilidade em ajudar nas análises estatísticas do trabalho.

E a todos que direta ou indiretamente estiveram comigo, muito obrigada!

*“Foi o tempo que dedicastes à tua rosa que a fez tão importante”*

(Antoine de Saint-Exupéry)

## RESUMO

A prática de consumo de cogumelos comestíveis torna-se cada vez mais popular, o que antes era restrito aos países orientais, esse é apenas um dos motivos pelo qual tem-se procurado avançar nas condições de cultivo que visem maior produção e rendimento deste. Desta forma, tal pesquisa visou avaliar a potencialidade do cogumelo *P. eryngii* quanto à produção de biomassa micelial usando meios de cultura alternativos por fermentação submersa considerando a influência do tempo de cultivo. Para isso, a produção de biomassa foi verificada por fermentação submersa utilizando meios à base de vegetais amazônicos, a saber: macaxeira, batata-doce (casca roxa e casca branca), cará-roxo e cará branco com pH aferidos em 6,0, esterilizados a 121°C por 15 minutos. A fermentação foi conduzida durante 15 dias a 25 °C sob agitação constante de 150 rpm na ausência de luz. Após cinco, dez e quinze dias de cultivo, foram separados os frascos para quantificação da biomassa micelial, que foi separada por filtração a vácuo, desidratadas até peso constante, e medidos o pH do líquido sobrenadante. Verificou-se que houve crescimento fúngico em todos os meios de cultura propostos e o meio POL (teste) favoreceu a produção da biomassa, com valores de 2,2g/L, 6,69g/L, e 11,02g/L tendo decorridos cinco, dez e quinze dias de cultivo, respectivamente. Para os meios à base de vegetais, no 5º dia de cultivo destacou-se os meios à base de macaxeira destacou-se o 2,65g/L de biomassa micelial; após 10 dias de cultivo, meios formulados com cará-branco (6,55g/L) e finalmente para o 15º dia de cultivo foram os meios formulados à base de batata-doce de casca roxa (12,02g/L). O meio de cultura POL apresentou maior diminuição de pH em função do tempo de cultivo, com médias de 5,88 (5º dia), 3,77 (10º dia) e 3,9 (15º dia). Esse trabalho mostra, enfim, que a continuidade de pesquisas nessa área é bastante promissora, contribuindo para um melhor entendimento da fisiologia de *P. eryngii* e para o desenvolvimento de bioprocessos.

**Palavras chave:** Cogumelos comestíveis, fermentação submersa, vegetais amazônicos.



## ABSTRACT

The practice of eating edible mushrooms becomes more and more popular, what was once restricted to the Eastern countries, this is only one reason why we have tried to advance in the conditions of cultivation that aim at greater production and yield of this. Thus, this research aimed to evaluate the potentiality of the *P. eryngii* mushroom for the production of mycelial biomass using alternative culture media by submerged fermentation considering the influence of culture time. For this, biomass production was verified by submerged fermentation using media based on Amazonian vegetables, namely: cassava, sweet potato (purple peel and white peel), purple and white with pH measured at 6.0, sterilized at 121°C for 15 minutes. The fermentation was conducted for 15 days at 25°C under constant stirring at 150 rpm in the absence of light. After five, ten and fifteen days of cultivation, the flasks were separated for quantification of the mycelial biomass, which was filtered off under vacuum, dehydrated to constant weight, and the pH of the supernatant was measured. It was verified that fungal growth occurred in all proposed culture media and the POL (test) medium favored biomass production, with values of 2.2 g/L, 6.69 g/L, and 11.02 g/L five, ten and fifteen days of cultivation, respectively. For plant-based media, on the 5th day of cultivation, the media with the base of cassava were highlighted, with 2.65g/L of mycelial biomass; after 10 days of cultivation, mediums formulated with white character (6.55/ L) and finally for the 15th day of culture were the means formulated with sweet potato of purple bark (12.02g/L). The culture medium showed a higher pH decrease as a function of culture time, with a mean of 5.88 (5th day), 3.77 (10th day) and 3.9 (15th day). This work shows that the continuity of research in this area is very promising, contributing to a better understanding of *P. peyngii* physiology and the development of bioprocesses.

**Key words:** Edible mushrooms, submerged fermentation, Amazonian vegetables.

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>11</b>
1.1. Cogumelos Comestíveis .....	11
1.2. O gênero <i>Pleurotus</i> .....	13
1.3. Formas de cultivo de cogumelos .....	15
1.3.1. Cultivo em matriz sólida .....	15
1.3.2. Cultivo submerso.....	16
<b>2. OBJETIVOS .....</b>	<b>18</b>
2.1. Objetivo Geral .....	18
2.2. Objetivos Específicos .....	18
<b>3. MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>18</b>
3.1. Basidiomiceto .....	18
3.2. Cultivo de <i>P. eryngii</i> por fermentação submersa .....	19
3.3. Avaliação da produção da biomassa micelial .....	20
3.4. Determinação do pH.....	21
3.5. Análises Estatísticas .....	21
<b>4. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>21</b>
4.1. Crescimento Micelial.....	21
4.2. Variações de pH.....	24
<b>5. CONCLUSÃO.....</b>	<b>25</b>
<b>6. REFERÊNCIAS .....</b>	<b>25</b>

## 1. INTRODUÇÃO

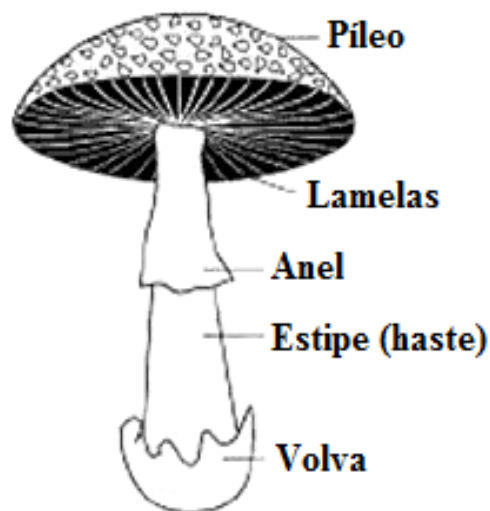
### 1.1. Cogumelos comestíveis

O Reino Fungi abrange uma variedade de organismos eucarióticos, micro e macroscópicos, unicelulares e multicelulares, fazendo parte deste os bolores, cogumelos e leveduras. Aproximadamente 100.000 espécies de fungos já foram descritas atualmente, porém existe a possibilidade de existência de pelo menos 1,5 milhões de espécies (HAWKSWORTH, 2001). Tais organismos são quimiorganotróficos, por isso, apresentam nutrição simples, e através das enzimas que são excretadas para o meio, digerem macromoléculas, principalmente carboidratos e proteínas, em monômeros aptos para serem absorvidos (MADIGAN *et al.*, 2010).

Basidiomycota é um dos filos deste reino, que compreende os fungos habitualmente denominados de basidiomicetos, constituindo um grupo bastante heterogêneo, sendo os cogumelos e orelhas-de-pau as formas mais comuns e conhecidas (PUTZKE, 1998; RAVEN, 2014).

Uma forma típica de um cogumelo, tal como é observada na Figura 1 é apenas a parte visível e reprodutiva, formada por finíssimos filamentos (as hifas) que quando unidos formam o micélio, normalmente extenso, que de acordo com o crescimento do basidioma se distribui amplamente pelo substrato (COIMBRA, 2013); tais cogumelos apresentam diferentes estruturas, as comuns como: píleo, estipe, lamelas, e algumas mais restritas como: anel e volva (MUZZI, *et al.*, 2013).

Figura 1: Estrutura de um Cogumelo



Fonte: [www.eonanacatl.org](http://www.eonanacatl.org) [adaptado].

As mais variadas espécies de cogumelos estão repartidas em diferentes ecossistemas e podem ser micorrízicos, parasitas ou na forma de sapróbios que são mais predominantes, protagonistas na decomposição de substratos orgânicos (ERJAVEC *et al.*, 2012). E assim como qualquer organismo tem sua função na natureza, os cogumelos são componentes muito importantes em ecossistemas florestais, atuando na ciclagem de carbono, com a biodegradação de celulose e lignina, na retirada de substâncias tóxicas do ambiente, assim como, associando-se às raízes de determinadas plantas, originando as micorrizas (STAMENTS, 2006).

Dentro desse diversificado grupo, encontram-se os cogumelos comestíveis, comumente pertencentes à Ordem Agaricales. Atualmente, são reconhecidas mais de duas mil espécies de cogumelos potencialmente comestíveis, entretanto, pouco mais que dez destas são exploradas comercialmente no mundo (LOPES, SABAINÉ e GOMES-DA-COSTA, 2011). Estes macrofungos comestíveis são muito apreciados desde a idade antiga pelos povos orientais, sendo utilizados como especiarias nobres em pratos culinários (FIGUEIRÓ, 2009).

Nesses e em muitos outros países o consumo de cogumelos está se difundindo, resultado de pesquisas científicas que apontam para suas atrativas características nutricionais e sensoriais. Alguns autores os consideram como alimentos quase completos, justamente por serem ricos em proteínas, fibras, sais minerais, ferro, vitaminas B1 e B2, cálcio, além de apresentarem baixos teores de gordura e carboidratos (REIS *et al.*, 2010; PALHETA *et al.*, 2011; SALES-CAMPOS *et al.*, 2011).

Além dessas propriedades, diversas espécies apresentam benefícios funcionais por conterem compostos com propriedades biologicamente ativas, comprovados por diversos estudos (HELENO *et al.*, 2012; GUO *et al.*, 2014; ZOU *et al.*, 2015; BACH, 2017; ZHANG *et al.*, 2014; DULAY; RAY; HOU, 2015). Determinadas espécies estão sendo utilizadas na medicina preventivo-curativa, prática que ocorre há milhares de anos, tal expectativa, se dá por serem fontes de diversos compostos que expressam atividade antioxidante, antimicrobiana, anti-inflamatória, imunomoduladora, antiviral, hipocolesterolêmica e ainda apresenta efeitos positivos sobre as funções cardíacas (MEHTA *et al.*, 2011). Muitas de suas propriedades terapêuticas são atribuídas aos componentes que atuam como modificadores de resposta biológica (ALQUINI, 2010).

Com tantos fatores positivos, é de se esperar tamanha valorização na produção destes cogumelos. Em 2011, a produção mundial de cogumelos comestíveis foi estimada em cerca

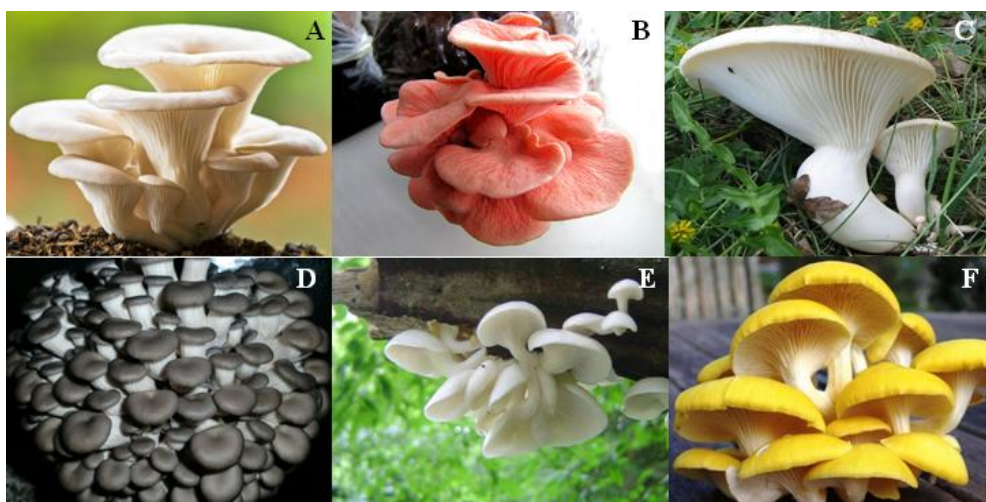
de 7,7 milhões de toneladas, estando à frente a China e a União Europeia como maiores produtores (FAO, 2013). Entre as espécies cultivadas e comercializadas em larga escala podemos citar: *Pleurotus ostreatus*, *Agaricus brasiliensis*, *Agaricus brunescens*, *Agaricus bisporus*, *Agaricus bitorquis*, *Lentinula edodes*, *Volvariella volvacea*, *Flamulina velutipes* e *Ganoderma lucidum* (COLAUTO *et al.*, 2010; REIS *et al.*, 2010; UDDIN *et al.*, 2011).

Para que esta produção possa ser aumentada, muitas pesquisas têm sido realizadas a fim de promover o aperfeiçoamento de técnicas que possibilitem a redução dos custos de produção e que resultem em menor custo ao consumidor, estimulando assim o consumo e a comercialização (FERDINANDI e ROSADO, 2008; REIS *et al.*, 2010).

## 1.2. O gênero *Pleurotus*

Os fungos deste gênero são conhecidos popularmente como cogumelos ostra e podem ser encontrados em florestas tropicais e subtropicais. Diversas linhagens são conhecidas por apresentarem uma grande variedade de cores (Figura 2), que vão do branco ao cinza-escuro, marrom, amarelo, salmão, entre outras, variando de acordo com cada espécie, incidência de luz durante a frutificação, necessidades nutricionais, tempo de incubação e temperatura (MARINO *et al.*, 2008; OMARINI *et al.*, 2010).

Figura 2: *P. ostreatus* var. *florida* (a) *P. djamor* (b) *P. nebrodensis* (c) *P. ostreatus* (d) *P. pulmonarius* (e) *P. citrinopileatus* (f)



Fonte: [www.mushrooms.com](http://www.mushrooms.com) [adaptado].

Conhecidos por causar a podridão branca da madeira e degradar eficientemente a lignina, um polímero fenólico de difícil degradação encontrado nos vegetais (GRACIOLI,

2010), as espécies desse gênero apresentam a capacidade de se desenvolver em vários resíduos agroindustriais que contenham celulose, hemicelulose, lignina, amido, pectina e proteínas e desta forma produzir basidiomas de alta qualidade organoléptica (FIGUEIRÓ e GRACIOLLI, 2010; FIGUEIRÓ, 2009; MINOTTO *et al.*, 2011).

Encontra-se presente neste gênero, outro cogumelo que aos poucos é encaixado no mercado de cogumelos comestíveis apreciáveis; *P. eryngii*, conhecido popularmente por cogumelo-do-cardo, ou cogumelo-rei, caracteriza-se morfológicamente por apresentar píleo levemente convexo quando jovem, e na fase adulta tem a forma plano-convexo e um pouco deprimido no centro, com a margem enrolada, um pouco escamosa e irregularmente ondulada, apresenta coloração castanho-ocrácio a castanho-escuro, e por vezes tons violáceos (DGADR, 2013).

Tal cogumelo possui lamelas decurrentes, pouco apertadas, desiguais, algumas bifurcadas, a princípio brancas, depois cremes a ocráceas na maturidade; também possui o estipe excêntrico ou lateral, e algumas vezes central, cilíndrico ou fusiforme, bulboso, esbranquiçado, com muito micélio branco na base (Figura 3), é um cogumelo com odor e sabor agradável. *P. eryngii* cresce sobre raízes secas, terrenos calcários, ou em pequenos tufos, sapróbio, dando a impressão de ser terrícola, por seus substratos na natureza serem quase sempre raízes mortas enterradas (DGADR, 2013).

Figura 3: Características morfológicas do cogumelo (a); *P. eryngii* na natureza (b)



Fonte: (a) DGADR, 2013, p. 73; (b) <http://www.saludybuenosalimentos.es> [adaptado].

### 1.3. Formas de cultivo de cogumelos

#### 1.3.1. Cultivo em matriz sólida

No Brasil, os primeiros cultivos de cogumelos comestíveis eram realizados em bagaço de cana-de-açúcar, entretanto, a escassez eminente desse resíduo, provocou a busca por substratos alternativos para serem utilizados (REIS *et al.*, 2010). Na literatura encontra-se a descrição do uso de diversos resíduos agroindustriais para obtenção de basidiomas de *Pleurotus* spp., a saber: serragem de diversas espécies madeireiras, resíduo de algodão, bagaço de cana-de-açúcar, palha de soja, sabugo de milho, capim-elefante, aveia, azevém, girassol, serragem de eucalipto, ligustre, entre vários outros, suplementados ou não, e em diferentes concentrações destes suplementos. O desenvolvimento dessas pesquisas é direcionado para o conhecimento das melhores condições de crescimento, cultivo e produtividade da espécie (MINOTTO *et al.*, 2008; CEITA; UETANABARO; KAMIDA, 2009; REIS *et al.*, 2010).

Nesse contexto, uma das principais vantagens de cultivo de *Pleurotus* spp. em relação às espécies de *Agaricus* e outros cogumelos comestíveis está relacionada ao fato de não serem exigentes quanto ao substrato de cultura (RIVAS, 2010). As espécies *P. florida*, *P. sajor-caju* e *P. ostreatus* são apontadas como uma das mais apropriadas para cultivo em regiões subtropicais e tropicais, e a popularidade deste gênero, se dá principalmente pelo sabor e textura (CASTRO, 2003; KIM *et al.*, 2007).

Em seu trabalho Moda (2003), afirma que existem várias vantagens ao se cultivar *Pleurotus* sp.: pela facilidade de manejo e produção, ocupando pouco tempo e espaço, pela utilização de várias matérias-primas como palhas, capins e bagaços que são abundantes e de menor custo, não requer exigências quanto a climatização, podendo ser cultivado em qualquer região do Brasil; apresentam também resistência a pragas e doenças e seu crescimento é relativamente rápido frente à outros gêneros comestíveis, permitindo um alto retorno do investimento. E estes fungos são extremamente eficientes na conversão do substrato em biomassa, alcançando frequentemente rendimentos acima de 100%, quando somados os vários fluxos produtivos (ZERVAKIS *et al.*, 2001)

Dundar, Acay e Yildiz (2009) testaram vários substratos lignocelulósicos para a produção de *Pleurotus ostreatus* em diferentes concentrações e com ou sem suplementação. As combinações mais adequadas para o alto rendimento foram folhas de Choupo-tremedor

(*Populus tremula*) suplementada com resíduo de papel a 50% e palha de trigo suplementada, respectivamente, com 50% de resíduo de papel e 50% de folhas de avelã com 20% de resíduo de papel.

Outros substratos como serragem de marupá, serragem de pau de balsa, bagaço de cana-de-açúcar e estipe de pupunheira, também possuem alta eficiência biológica para o cultivo de *P. ostreatus*, com destaque para estipe de pupunheira com 100% de eficiência (SALES-CAMPOS *et al.*, 2010).

Dessa forma, diversos estudos estão sendo publicados com a intenção de melhorar as condições favoráveis de cultivo desses cogumelos comestíveis. Ao trabalhar com cultivo de cogumelos, sabe-se que a escolha do substrato é um fator de primordial importância, pois entende-se que existem resíduos que promovem maiores produções, em função da sua composição química. Assim sendo, os valores nutricionais dos cogumelos procedem do tipo de substrato utilizado e também as condições de cultivo sugeridas (CURVETTO *et al.*, 2002).

### 1.3.2. Cultivo submerso

O cultivo submerso é considerada a melhor técnica para obtenção de micélio fúngico (MOKOCHINSKI *et al.*, 2015) e biomoléculas que apresentam propriedades específicas de interesse biotecnológico e, conseqüentemente, de grande valor agregado tais como os antibióticos, enzimas, micotoxinas, vitaminas, ergosterol dentre outros (ROSADO *et al.*, 2003; BEROVIČ *et al.*, 2003; HRISTOZOVA, 2005 ). Trata-se de um bioprocessamento que disponibiliza os nutrientes, que podem ser peptonas, açúcares solúveis e substâncias complexas (vitaminas e íons) para o organismo em um meio líquido (água ou mesmo em soluções tampão) (OLIVEIRA *et al.*, 2012).

Uma das vantagens dessa forma de cultivo é que a produção micelial ocorre em um espaço compacto e em menor tempo em comparação com matriz sólida (FRIEL & MCLOUGHLIN, 2000). Tal processo garante também um melhor controle dos parâmetros físico-químicos do processo, a recuperação de enzimas extracelulares e a determinação de biomassa são facilitadas, sendo realizadas por filtração simples ou centrifugação para a remoção das células (LIMA *et al.*, 2003; FERNANDES, 2007; COUTO; SANROMÁN, 2006). Entretanto, a probabilidade de contaminação do meio de cultivo, em função da grande quantidade de água disponível, é um inconveniente (PINHEIRO, 2006).



Pesquisadores vêm estudando a possibilidade de produzir micélio em meio líquido há mais de quarenta anos, a primeira tentativa deste tipo de cultivo visou cultivar *A. campestris* em meio constituído de nutrientes sintéticos (glicose, uréia e alguns minerais), sob agitação. Desta forma, vários tipos de meios de cultura têm sido utilizados em cultura submersa para tal finalidade (CONFORTIN, *et al.*, 2008).

Rosado e colaboradores (2003) verificaram a produção de biomassa de *P. ostreatus* e *P. ostreatoroseus* em meio composto por glicose, extrato de levedura, peptona e minerais e obtiveram, após nove dias de incubação, 22,8g de peso seco de micélio. Campos e colaboradores (2010) avaliaram a produção de biomassa de *P. ostreatus*, e para isso, utilizou meio Pontecorvo enriquecido com proteína de soja, e encontrou maior produção de biomassa em apenas nove dias de cultivo. Ferdinandi & Rosado (2008) utilizaram caldo Batata-dextrose com diferentes concentrações de extratos de *Ginkgo biloba* para produção de biomassa de *P. ostreatus*.

Kirsch (2013) avaliou a influência de diversos tipos e concentrações de fontes nutricionais para o cultivo de *P. albidus*, cuja biomassa foi utilizada para confecção de barras de cereais. Confortin e outros (2008) cultivou *P. sajor-caju*, através de meios de cultura contendo diferentes concentrações de glicose, óleo de soja e de solução mineral, proteína de soja e de extrato de levedura Prodex. Outros meios descritos na literatura como bons produtores de biomassa em processos de fermentação submersa de *Pleurotus* spp. são: Czapek, POL, Ágar-Batata-Dextrose, com ou sem adição de extratos de levedura, Glicose, Extrato de levedura e peptona (GYP) (SILVA, 2015).

Nesse sentido, Fukuda e colaboradores (2009) afirma que os valores significativos de biomassa podem ser obtidos pela otimização de condições de cultivo, e que isso permite um aumento nas quantidades de componentes celulares que podem ser extraídos e terem suas moléculas básicas investigadas, para posteriores aplicações industriais e ou ambientais.

Ao entender que o crescimento fúngico depende da presença de elementos nutritivos presentes no meio de cultura, uma melhor especificação das condições de cultivo dos requerimentos nutricionais, utilizando espécies vegetais, economicamente viáveis, como substrato de cultivo traz uma significativa contribuição ao desenvolvimento de processos que proporcionem um maior rendimento em biomassa e até em produtos a partir do cogumelo estudado, neste caso *Pleurotus eryngii*.

## 2. OBJETIVOS

### 2.1. Objetivo Geral

- Avaliar a potencialidade do cogumelo *P. eryngii* quanto à produção de biomassa micelial usando meios de cultura alternativos.

### 2.2. Objetivos Específicos

- Avaliar a produção da biomassa micelial de *P. eryngii* por fermentação submersa utilizando diferentes meios de cultura;
- Analisar a influência do tempo de cultivo na produção de biomassa micelial do cogumelo por fermentação submersa.

## 3. MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa foi realizada no Laboratório de Microbiologia do Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia e Recursos Naturais, da Universidade do Estado do Amazonas no período de Novembro de 2016 até Setembro de 2017.

### 3.1. Basidiomiceto

A linhagem comercial de *Pleurotus eryngii* utilizada na pesquisa foi obtida na cidade de Manaus. Para o isolamento do fungo foram retirados pequenos fragmentos da região interna do basidioma e inoculados em placas de Petri contendo ágar batata dextrose (BDA). Os cultivos foram mantidos a 25°C na ausência de luz (KIRSCH *et al.*, 2011) e em seguida utilizados nos experimentos fermentativos (Figura 4).

Figura 4: Basidiomas de *P. eryngii* (a) e micélio de *P. eryngii* em BDA (b)



Fonte: (a) KOMURA, 2009, p. 22. (b) ANDRADE, 2016

### 3.2. Cultivo de *P. eryngii* por fermentação submersa

A produção de biomassa de *P. eryngii* foi verificada por fermentação submersa em frascos Erlenmeyer (125 mL) contendo 50 mL de meio de cultura, utilizou-se o meio de cultura POL (Tabela 1) como controle, tal meio de cultura é tradicionalmente descrito na literatura para obtenção de biomassa de *Pleurotus* spp. (Rosado *et al.*, 2003).

Tabela 1: Formulação do meio de cultura POL

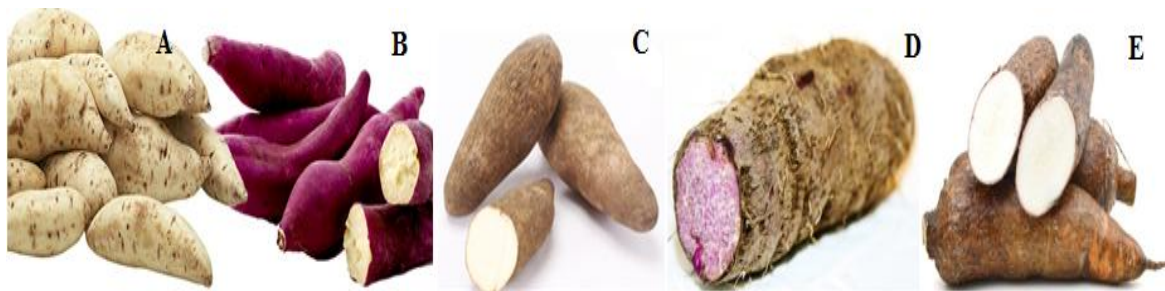
Componentes	Quantidade
Glicose	40g
Peptona	1g
Extrato de levedura	2g
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	1g
MgSO <sub>4</sub>	0,2g
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	0,2g
Água destilada	1000 mL

Com a finalidade de avaliar meios de cultura alternativos para produção de biomassa de *P. eryngii* foram formulados cinco meios à base de vegetais amazônicos (Figura 5), a saber: macaxeira (*Manihot esculenta* Crantz), batata-doce (casca roxa e casca branca) [*Ipomoea batatas* (L.). Lam], cará-roxo (*Dioscorea trifida* L.f.) e cará-branco (*Dioscorea dodecaneura* Vell.). Para a preparação dos meios foi utilizada a composição descrita na Tabela 2; detalhadamente, utilizou-se a infusão do cozimento de cada vegetal e adicionados glicose, posteriormente os meios postos em frascos erlenmeyers foram esterilizados por 15 minutos a 121°C, colocados para descansar, e iniciados o processo fermentativo.

Tabela 2: Formulação dos meios de cultura com vegetais amazônicos

Componentes	Quantidade
Vegetal	200g
Glicose	20g
Água destilada	1000 mL

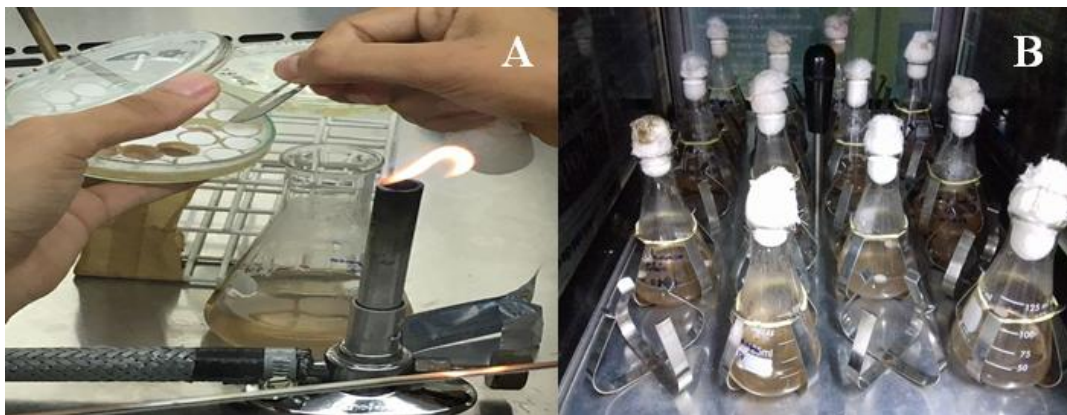
Figura 5: Batata-doce da casca branca e roxa (A/B), Cara- roxo e branco (C/D), Macaxeira(E)



Fonte: [www.hortideli.com.br](http://www.hortideli.com.br) [adaptado]

A partir das culturas mantidas em BDA (item 3<sup>a</sup>3.1) foram retirados três fragmentos de micélio ( $\varnothing= 1\text{cm}$ ) e adicionados aos meios de cultura (Figura 6a). A fermentação submersa (Figura 6b) foi conduzida durante 15 dias a 25 °C sob agitação constante de 150 rpm na ausência de luz (KIRSCH *et al.*, 2011). Após cinco, dez e quinze dias de cultivo, foram separados os frascos em triplicada, para quantificação da biomassa micelial do cogumelo.

Figura 6: Fragmentos inoculados ao meio (a); Fermentação submersa (b)

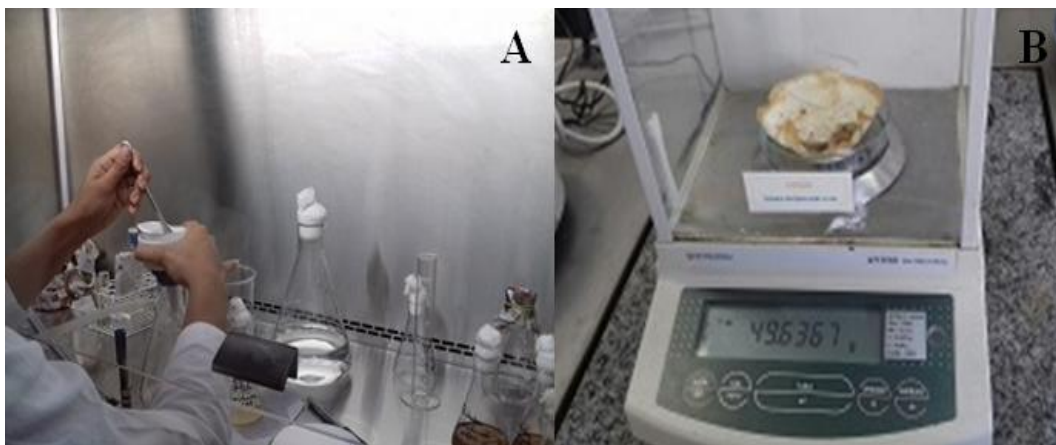


Fonte: ANDRADE, 2017

### 3.3. Avaliação da produção da biomassa micelial

Ao término do processo fermentativo a biomassa micelial obtida foi separada por um processo denominado filtração a vácuo em papel de filtro (Whatman No. 1) anteriormente (Figura 7a), lavada com água destilada esterilizada e desidratada (Figura 7b) em estufa a 60° C, e pesados em balança analítica até peso constante (KIRSCH *et al.*, 2016).

Figura 7: Filtração à vácuo (a); Biomassa micelial desidratada (b)



Fonte: ANDRADE, 2017

### 3.4. Determinação do pH

O pH dos meios de cultura foram padronizados a 6,0 antes de iniciar a fermentação submersa. Após a filtração, foi medido o pH do líquido sobrenadante das amostras com auxílio de pHmetro de bancada da Marca Quimis, devidamente calibrado.

### 3.5. Análises Estatísticas

Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ) utilizando o software Statística 7.0 (Statsoft, Inc., Tulsa, OK, USA).

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1. Crescimento Micelial

Neste trabalho, cinco meios alternativos de cultivo foram avaliados quanto à produção de biomassa micelial sob fermentação submersa de *P. eryngii*, desta forma, verificou-se que houve crescimento fúngico em todos os meios de cultura propostos, embora se tenha destacado diferenças significativas nos índices de biomassa dos diferentes meios. Os resultados foram comparados com os dados obtidos através do meio de cultura POL. Os resultados que serão apresentados são os valores médios alcançados em função do tempo de cultivo, traçados em cada triplicata.

Com base na Tabela 3 o meio POL favoreceu a produção da biomassa, com valores de 2,2g/L, 6,69g/L, e 11,02g/L tendo decorridos cinco, dez e quinze dias de cultivo, respectivamente. Esses são superiores aos encontrados por Gern (2005) quando utilizando o mesmo meio de cultivo, observou que a biomassa em apenas onze dias, chegou a 7,3g/L, mais superiores ainda quando comparados com o trabalho de Corrêa, Wisbeck e Furlan (2003), que alcançou uma produção máxima de biomassa de 0,49g/L em seis dias de cultivo, com um cogumelo do mesmo gênero, *Pleurotus ostreatus*.

Com uma média de crescimento de 4,4g/L a cada cinco dias (0,88g/L ao dia), evidencia-se que com 15 dias de cultivo no meio de cultura teste (POL) *P. eryngii* ainda continua crescendo, voltando-se para isso, baseado nas fases de crescimento microbiano, o cogumelo ainda não atingiu a fase de morte e declínio, pois suas células ainda estariam absorvendo nutrientes do meio, sintetizando seus constituintes, resultando no crescimento do mesmo. Concordando que os fungos do gênero *Pleurotus* são excelentes produtores de biomassa micelial (CAMPOS, 2010).

Tabela 3: Biomassa micelial (g/L) de *P. eryngii* produzida em diferentes tempos de incubação

Tipo de substrato	Dias de Cultivo		
	5	10	15
POL	2.2±0.99 <sup>ab</sup>	6.69±1.55 <sup>a</sup>	11.02±0.87 <sup>a</sup>
Batata-doce (casca roxa)	1.95±0.16 <sup>abc</sup>	5.74±1.69 <sup>a</sup>	12.02±0.12 <sup>a</sup>
Batata-doce (casca branca)	1.44±0.16 <sup>bcd</sup>	3.41±0.92 <sup>a</sup>	4.84±0.57 <sup>b</sup>
Cará-branco	0.73±0.04 <sup>d</sup>	6.55±0.31 <sup>a</sup>	7.12±1.05 <sup>c</sup>
Cará-roxo	0.96±0.31 <sup>cd</sup>	3.53±0.56 <sup>a</sup>	4.06±0.28 <sup>b</sup>
Macaxeira	2.65±0.21 <sup>a</sup>	3.8±3.83 <sup>a</sup>	4.81±0.17 <sup>b</sup>

\*Colunas com a mesma letra não apresentam diferença significativa a um nível de 95%

Para os meios à base de vegetais amazônicos, no 5º dia os meios que se destacam são à base de macaxeira, apresentando 2,65g/L, seguido do meio POL (2,2g/L), apesar de não haver diferença estatística entre eles. O fato de *P. eryngii* responder aos meios compostos por macaxeira nos primeiros cinco dias de cultivo e nos dias seguintes continuar crescendo, porém lentamente, podendo está relacionado aos componentes nutricionais presentes nesta raiz, em termos bioquímicos, as raízes de macaxeira são energéticas por excelência, tendo em sua composição 92,5% de carboidratos, principalmente amido, por isso os carboidratos constituem a fração mais importante da mandioca (MAIEVES, 2010). Possuem uma

composição média de 69,5% de umidade, 18 a 28% de glicose, 1,1% de proteínas, 0,30% de gordura, 151 kcal de calorias e 1,9% de fibras, a cada 100g da raiz (TACO, 2011). Isso significa dizer que são raízes que possuem nutrientes favoráveis para a produção micelial do cogumelo, porém em poucas proporções.

O meio POL foi o que favoreceu a maior produção da biomassa micelial do cogumelo (6,69g/L) após 10 dias de cultivo, apesar do valor médio não ter diferido estatisticamente em relação aos demais meios de cultura. Valores inferiores a estes foram encontrados por Komura (2006) quando trabalhou com *P. eryngii* utilizando o meio de cultura POL, também em 10 dias de cultivo, o que resultou numa produção de biomassa micelial de 5,15g/L. Em trabalho de Rosado e colaboradores (2003) foi avaliada em cultivo submerso a produção de biomassa de duas linhagens brasileiras de *Pleurotus* (*P. ostreatoroseus* Sing. e *P. ostreatus* var. *florida*), utilizando o meio POL, porém em apenas nove dias de incubação, *P. ostreatus* var. *florida* apresentou uma maior concentração de biomassa (22,8g/L) do que a produzida por *P. ostreatoroseus* (16,8g/L).

Para o 15º dia de cultivo, *P. eryngii* teve uma maior produção de biomassa nos meios formulados à base de Batata-doce de casca roxa (12,02g/L), posteriormente vem o meio POL (11,02g/L) e cará-branco (7,12g/L). Valores diferentes destes foram encontrados por Bellettini (2014), ao estudar a produção micelial por fermentação submersa do cogumelo *P. djamor* em meios à base de fração líquida da bainha de pupunha (*Bactris gasipaes*) numa concentração de 80%, obtendo uma biomassa micelial de 1,66g/L em 14 dias de cultivo.

Ao comparar os nutrientes presentes em 100g de batata-doce de casca roxa (26,1g de carboidratos, 1,5g de proteínas, 7,1g de minerais, 111kcal de energia e até 7,8% de açúcares totais) (EMBRAPA, 2008) esses diferem com relação aos da bainha de pupunha (22,3g de carboidratos, 4,7g de proteínas, 4,2g de minerais, 120kcal de energia e 16,7% de açúcares) (TAVARES, 2013). A batata-doce é uma raiz tuberosa que quando comparada com outras estruturas vegetais amiláceas, possui maior teor de matéria seca, carboidratos, lipídios, cálcio e fibras que a batata, mais carboidratos e lipídios que o Inhame e mais proteína que a mandioca (EMBRAPA, 2008).

Tais informações são importantes para entender que os substratos devem proporcionar nutrientes e condições apropriadas para o crescimento micelial, por isso é conveniente que sejam incentivadas futuras pesquisas com adição de nutrientes ao meio que favoreça o crescimento fúngico e aumente a produção micelial, sem elevar o custo.

## 4.2. Variações de pH

Todos os meios de cultura foram formulados e aferidos para 6,0 antes do início da fermentação submersa, entretanto, os índices de pH dos meios foram apresentando mudanças no decorrer do tempo de cultivo, que pode ser verificada na Tabela 4.

Tabela 4: Variações de pH em cada tempo de cultivo

Tipo de substrato	Dias de Cultivo		
	5	10	15
POL	5.88±0.03 <sup>a</sup>	3.77±0.20 <sup>a</sup>	3.90±0.01 <sup>a</sup>
Batata (casca roxa)	6.51±0.29 <sup>ab</sup>	6.04±0.64 <sup>b</sup>	6.46±0.01 <sup>b</sup>
Batata (casca branca)	6.12±0.93 <sup>a</sup>	6.21±1.21 <sup>b</sup>	5.81±0.40 <sup>b</sup>
Cará branco	6.28±0.04 <sup>a</sup>	6.46±0.22 <sup>b</sup>	6.08±0.04 <sup>b</sup>
Cará-roxo	6.85±0.02 <sup>ab</sup>	6.70±0.14 <sup>b</sup>	5.89±0.78 <sup>b</sup>
Macaxeira	7.5±0.19 <sup>b</sup>	6.32±0.12 <sup>b</sup>	6.26±0.26 <sup>b</sup>

\*Colunas com a mesma letra não apresentam diferença significativa a um nível de 95%

O meio de cultura teste (POL) apresentou maior diminuição de pH em função do tempo de cultivo, com médias de 5,88 (5º dia), 3,77 (10º dia) e 3,9 (15º dia), indicando que quanto mais *P. eryngii* consumia os nutrientes e produzia biomassa micelial, mais excretava metabólitos para o meio de cultivo.

Todos os outros meios à base de vegetais amazônicos, também não permaneceram com o mesmo pH inicial, o que já era esperado, pois o metabolismo do fungo, ao crescer altera o pH, seja pela absorção de ânion ou cátion ou pela produção de ácidos orgânicos ou amônia. Apenas em fermentadores o pH pode ser mantido constante, automaticamente, durante o crescimento do fungo; a concentração do íon hidrogênio no meio pode afetar o crescimento indiretamente pelo seu efeito na disponibilidade de nutrientes ou diretamente pela sua ação nas superfícies celulares (COLEN, 2006).

É relevante citar, que todos os meios aumentaram o pH inicial após o início da fermentação submersa (5º dia), e somente na avaliação seguinte (10º dia) começa a decrescer, a maioria dos meios não decresce a ponto de ficar menor que o pH inicial, exceto os meios à base de Batata-doce de casca branca (5,81) e cará roxo (5,89) no 15º dia respectivamente, e o meio teste POL em todos os tempos avaliados não excedeu o pH inicial.

No meio de cultura à base de Macaxeira observou-se um aumento considerável após o início da fermentação submersa (7,5), diferenciando em 1,5 para mais o aumento do pH



tendo decorridos apenas cinco dias de processo; entretanto nas análises seguintes este valor diminuiu (6,32 e 6,26) embora não seja inferior ao pH inicial.

Kirsch (2013) afirma ainda que o pH do meio na fermentação é uma variável considerável no crescimento de fungos filamentosos, podendo afetar a função da membrana celular, morfologia e estrutura celular, tanto como a melhor absorção de vários nutrientes e biossíntese de produtos.

## 5. CONCLUSÃO

Os resultados obtidos no trabalho demonstram que há produção micelial de *P. eryngii* em tubérculos como o cará-roxo e o cará-branco (*Dioscorea trifida* e *Dioscorea dodecaneura*) e em algumas raízes, neste caso, a macaxeira (*Manihot esculenta*) e duas variedades de batata-doce, casca roxa e casca branca (*Ipomoea batatas*) utilizando fermentação em estado líquido. Os meios à base de vegetais que mais se destacaram frente à produção de biomassa micelial foram os formulados à base de batata-doce de casca roxa e o cará-branco.

Esse trabalho mostra, enfim, que a continuidade de pesquisas nessa área é bastante promissora, contribuindo para um melhor entendimento da fisiologia de *P.eryngii* e para o desenvolvimento de bioprocessos.

## 6. REFERÊNCIAS

ALQUINI, G. **Caracterização estrutural de polissacarídeos obtidos do corpo de frutificação e cultivo submerso de *Agaricus bisporus***, 2010. Dissertação (Mestrado em Ciências - Bioquímica) - Universidade Federal do Paraná, 2010. [Orientador: Prof. Marcelo Iacomini]. Disponível em: < <http://acervodigital.ufpr.br/handle/1884/25542>>. Acesso em 18 de Agosto de 2017.

BACH, Fabiane. **Avaliação do potencial nutricional, antioxidante e antibacteriano de cogumelos comestíveis**. Curitiba, 2017. 135 f. Tese (Programa de Pós Graduação em Engenharia de Alimentos) - Universidade Federal do Paraná, Setor de Tecnologia, Curitiba, 2017. [Orientador: Charles Windson Isidoro Haminiuk]. Disponível em: < <http://www.posalim.ufpr.br/Pesquisa/pdf/Tese%20Fabiane.pdf>>. Acesso em 13 de Set. 2017.

BELLETTINI, M. B. **Desenvolvimento de um bioprocesso integrado para valorização de bainha de Pupunha (*Bactris gasipaes* Kunth): produção de cogumelos (*Pleurotus spp.*) e alface (*Lactuca sativa*) cv. Verônica.** Curitiba, 2014. 134 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2014. [Orientador: Carlos Ricardo Soccol]. Disponível em: <<http://www.posalim.ufpr.br/Pesquisa/pdf/Disserta%20MARCELO%20BARBA.pdf>>. Acesso em 13 de Set. 2017.

BEROVIČ, M.; HABIJANIČ, J.; ZORE, I.; WRABER, B.; HODŽAR, D.; BOH, B.; POHLEVEN, F. Submerged cultivation of *Ganoderma lucidum* biomass and immunostimulatory effects of fungal polysaccharides. **Journal of Biotechnology**, Amsterdam, v. 103, n. 1, p. 77-86, 2003.

CAMPOS, C; DIAS, D. C; VALLE, J. S; COLAUTO, N. B; LINDE, G. A. Produção de biomassa, proteases e exopolissacarídeos por *Pleurotus ostreatus* em cultivo líquido. **Arq. Ciênc. Vet. Zool. UNIPAR**, Umuarama, v. 13, n. 1, p. 19-24, jan./jun. 2010.

CASTRO, A. L. A. **Resíduo de lixadeira do algodão: produção de cogumelo , ensilagem e alterações da composição bromatológica e degradabilidade.** 2003. 56 p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia-Nutrição de Ruminantes) - Universidade Federal de Lavras, 2003. [Orientador: Paulo César de Aguiar Paiva]. Disponível em: <<http://repositorio.ufla.br/jspui/handle/1/2205>>. Acesso em 20 de Out. de 2017.

CEITA, G. O.; UETANABARO, A. P. T.; KAMIDA, H. M. Emprego de substratos convencionais e alternativos para produção de cogumelos comestíveis: uma breve revisão. **SITIEN TIBUS: Série Ciências Biológicas**, v. 9, n. 1, p. 52-56, 2009.

COIMBRA, V. R. M. **Fungos agaricóides (Agaricales, Basidiomycota) na Reserva Biológica Saltinho, Pernambuco: diversidade e aspectos moleculares.** Recife, 2013. 79 p. Dissertação (Mestrado em biologia de fungos) Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2013. [Orientador: Profa Dr<sup>a</sup> Tatiana Gilbertoni]. Disponível em<<http://repositorio.ufpe.br/handle/123456789/12673>> Acesso em: 18 de Outubro de 2017.

COLAUTO, N. B.; SILVEIRA, A. R. DA; EIRA, A. F. DA ; LINDE, G. A. Pasteurização da turfa brasileira para o cultivo de *Agaricus brasiliensis*. **Semina. Ciências Agrárias**, v. 31, p. 1331-1336, 2010.

COLEN, G. **Isolamento e Seleção de fungos filamentosos produtores de lípases**. Belo Horizonte, 2006. 206 p. Tese (Doutorado em Ciências de alimentos) – Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte, 2006. [Orientador: Tasso Moares e Santos]. Disponível em: < [http://www.bibliotecadigital.ufmg.br/dspace/bitstream/handle/1843/MAFB-72BGXL/tese\\_g.\\_colen.pdf?sequence=1](http://www.bibliotecadigital.ufmg.br/dspace/bitstream/handle/1843/MAFB-72BGXL/tese_g._colen.pdf?sequence=1)>. Acesso em 12 de Out. de 2017.

CONFORTIN, F.G; MARCHETTO, R; BETTIN, F; CAMASSOLA, M; SALVADOR, M. DILLON, A. J. Production of *Pleurotus sajor-caju* strain PS-2001 biomass in submerged culture. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, v. 35, n. 10, p. 1149-1155, 2008.

CORRÊA, R. C.; WISBECK, E.; FURLAN, S. A. Estudo do preparo do pré-cultivo de *Pleurotus ostretus*. **Caderno de Iniciação à Pesquisa**, v.5, p. 144-147, 2003.

COUTO, S. R.; SANROMÁN, M. Á. Application of solid-state fermentation to food industry—A review. **Journal of Food Engineering**, v. 76, n. 3, p. 291-302, 10// 2006.

CURVETTO, N. R.; FIGLAS, D.; DEVALIS, R.; DELMASTRO, S. Growth and productivity of different *Pleurotus ostreatus* strains on sunflower seed hulls supplemented with N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> and/or Mn (II). **Bioresource Technology**, Essex, v.84, n.2, p.171-176, 2002.

DGADR, Direção-Geral de Agricultura e Desenvolvimento Rural. **Guia do Colector de Cogumelos: para os cogumelos silvestres comestíveis com interesse comercial em Portugal**. Portugal. Projeto: Promover os Recursos Micológicos. 2013.

DULAY, R. M. R.; RAY, K.; HOU, C. T. Optimization of liquid culture conditions of Philippine wild edible mushrooms as potential source of bioactive lipids. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, 2015.

DUNDAR, A.; ACAY, H.; YILDIZ, A. Effect of using different lignocellulosic wastes for cultivation of *Pleurotus ostreatus* (Jacq.) P. Kumm. On mushroom yield, chemical composition and nutritional value. **African Journal of Biotechnology**, v. 8, n. 4, p. 662-666, 2009.

EMBRAPA: **Composição Nutricional e uso da Batata doce**. 2ª edição: 2008. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/web/portal/hortalicas/batata/composicao-nutricional-da-batata>>. Acesso em 15 de Outubro de 2017.

ERJAVEC, J.; KOS, J.; RAVNIKAR, M.; DREO, T.; SABOTIČ, J. Proteins of higher fungus from forest to application. **Trends in Biotechnology**, v. 30, n. 5, 2012.

FAO/WHO (2013). **Food and Agriculture Organization of the United Nations/ World Health Organization. Statistics Databases**. Rome: FAO; 2013. Disponível em <<http://www.fao.org/statistics/en/>> . Acesso em: 16 de jan. 2017.

FERDINANDI, D. M.; ROSADO, F. R. Produção de biomassa de *Pleurotus ostreatus* (Jacq.Fr.) Kummer sob influência do extrato aquoso de *Ginkgo biloba* em diferentes concentrações. **Saúde e Pesquisa**, v. 1, p. 99-102, 2008.

FERNANDES, M. L. M. **Produção de lipases por fermentação no estado sólido e sua utilização em biocatálise**. Curitiba, 2007. 131 p. Dissertação (Doutorado em Química – Química orgânica) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2007. [Orientadora: Profa. Dra. Nadia Krieger]. Disponível em: <<http://acervodigital.ufpr.br/bitstream/handle/1884/10745/maria%20luiza.PDF?sequence=1>>. Acesso em 12 e Out. de 2017.

FIGUEIRÓ, G.G. **Influência do substrato no cultivo e na composição química do cogumelo *Pleurotus florida***. Ilha Solteira, 2009. 65f. Dissertação (Mestrado em Agronomia – Sistema de Produção) – Universidade Estadual Paulista, Ilha Solteira, 2009. [Orientador: Prof. Dr. Luiz Antonio Gracioli]. Disponível em: <[http://www.feis.unesp.br/Home/DTA/STPG/agro/dissertacoes2009/glaucia\\_figueiro\\_final\\_2009.pdf](http://www.feis.unesp.br/Home/DTA/STPG/agro/dissertacoes2009/glaucia_figueiro_final_2009.pdf)>. Acesso em 12 de Out. de 2017.

FRIEL, M.T; MCLOUGHLIN, A. J. Produção de Inóculo líquido para germinação de *Agaricus bisporus*. **Letras e Biotecnologia**, v. 22, Issue 5, p. 351-354, 2000.

FUKUDA, E. K.; VASCONCELOS, A.F. D.; MATIAS, A. C.; BARBOSA, A. M.; DEKKER, R. F. H.; SILVA, M. L. C. Polissacarídeos de parede celular fúngica: purificação e caracterização. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 30, n. 1, p. 117-134, jan./mar. 2009.

GERN, R. M. M. **Estudo de meios de cultivo para produção de biomassa e polissacarídeos por *Pleurotus ostreatus* DSM 1833 e cultivo submerso**. 2005. 156p. Tese (Doutorado em Engenharia Química) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2005. [Orientador: Dr Jorge Luiz Ninow]. Disponível em:<<https://repositorio.ufsc.br/bitstream/handle/123456789/102431/224148.pdf?sequence=1>>. Acesso em 18 de Set. de 2017.

GRACIOLI, L.A; CAETANO, C. P. S; LEONEL, M; AGUIAR, E. B. Cultivo de cogumelo comestível *Pleurotus florida* em ramas de mandioca. **Revista: Raízes e Amidos Tropicais**. Vol 6, p. 26-39, 2010.

GUO, X. hui; XIA, C. yan; TAN, Y. rong; CHEN, L.; MING, J. Mathematical modeling and effect of various hot-air drying on mushroom (*Lentinus edodes*). **Journal of Integrative Agriculture**, v. 13, n. 1, p. 207–216, 2014.

HAWKSWORTH, D. L. The magnitude of fungal diversity: the 1.5 million species estimate revisited. **Mycological Research**, v. 105, n.12, 1422-1432p, 2001.

HELENO, S. a.; BARROS, L.; MARTINS, A.; QUEIROZ, M. J. R. P.; SANTOS-BUELGA, C.; FERREIRA, I. C. F. R. Phenolic, polysaccharidic, and lipidic fractions of mushrooms from northeastern portugal: Chemical compounds with antioxidant properties. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 60, n. 18, p. 4634–4640, 2012.

HRISTOZOVA, T. S.; PAVLOVA, K.; PANCHEV, I. Physico-chemical characterization of exomannan from *Rhodotorula acheniorum* MC. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, Oxford, v. 21, n. 3, p. 279-283, 2005.

KIM, M. K.; MATH, R. K.; CHO, K. M.; SHIN, K. J.; KIM, J. O.; RYU, J. S.; LEE, Y. H.; YUN, H. D. Effect of *Pseudomonas* sp. P7014 on the growth of edible mushroom *Pleurotus eryngii* in bottle culture for commercial production. **Bioresource Technology**, Essex, v.99, n.8, p.3306-3308, 2007.

KIRSCH, L. S. **Produção da biomassa de *Pleurotus albidus* por fermentação submersa para elaboração de barras de cereais**. Manaus, 2013. 126 p. Tese (Doutorado em Biotecnologia) – Universidade Federal do Amazonas, Manaus, 2013 [Orientadora: Dra. Maria Francisca Simas Teixeira]. Disponível em: <<http://tede.ufam.edu.br/bitstream/tede/3102/1/Larissa%20de%20souza%20k.pdf>>. Acesso em 20 de Out. de 2017.

KIRSCH, L.S. ; Macedo, A.J.P ; TEIXEIRA, M.F.S. . Production of mycelial biomass by the Amazonian edible mushroom *Pleurotus albidus*. **Brazilian Journal of Microbiology (Online)**, v. 47, p. 658-664, 2016.

KIRSCH, L.S. *et al.* The influence of different submerged cultivation conditions on mycelial biomass and protease production by *Lentinus citrinus* Walley et Rammeloo DPUA 1535 (Agaricomycetidae). **International Journal of Medicinal Mushrooms**, v. 13, n. 2, 2011.

KOMURA, D. L. ***P. eryngii*: Isolamento, Cultivo e Exopolissacarídeos**. 2006. 40 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Ciências Biológicas) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2006. [Orientador: Prof. Dr. Guilherme Lanzi Sasaki]. Disponível em: <<http://acervodigital.ufpr.br/bitstream/handle/1884/37744/Monografia%20Dirce%20Leimi%20Komura.pdf?sequence=1>>. Acesso em 13 de Agosto de 2017.

LIMA, V.M.G.; KRIEGER, N.; SARQUIS, M.I.M.; MITCHELL, D.A.; RAMOS, L.P.; FONTANA, J.D., Effect of the nitrogen and carbon sources on lipase production by *Penicillium aurantiogriseum*. **Food Technology and Biotechnology**, v.41, p.105-110, 2003.

LOPES, A; SABAINÉ, N. M; GOMES-DA-COSTA, S. M; Produção de biomassa de cogumelo-do-sol e de Shitake em resíduos agroindustriais. **B. CEPPA**, Curitiba, v.7, n.2, p. 183-190. 2011.

MADIGAN, M.T.; MARTINKO, J.M.; DUNLAP, P.V.; CLARK, D.P. 2010. Microbiologia de Brock. 12. ed., Porto Alegre: **Artmed**. 1160p. 2010.

MAIEVES, H. A. **Caracterização Física, Físico Química e Potencial Tecnológico de novas Cultivares de Mandioca**. Florianópolis, 2010. 114 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis. 2010. [Orientadora: Profa. Dra. Edna Regina Amante]. Disponível em: <[http://pgeal.ufsc.br/files/2011/01/Helayne-Aparecida-Maieves\\_UFSC-2010.pdf](http://pgeal.ufsc.br/files/2011/01/Helayne-Aparecida-Maieves_UFSC-2010.pdf)>. Acesso em 21 de Out. de 2010.

MARINO, R. H.; ABREU, L. D. DE; MESQUITA, J. B.; RIBEIRO, G. T. Crescimento e cultivo de diferentes isolados de *Pleurotus ostreatus* (Jacq.: Fr.) Kummer em serragem da casca de coco. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.75, n.1, p.29-36, 2008.

MEHTA, B.K. *et al.* Cultivation of button mushroom and its processing: a techno-economic feasibility. **International Journal of Advanced Biotechnology and Research**, v. 2, n. 1, p. 201-207, 2011.

MINOTTO, E.; BERNARDI, E.; DONINI, L.P.; DO NASCIMENTO, J.S. Crescimento miceliano *in vitro* de *Pleurotus ostreatoroseus* e colonização do substrato capim-elefante (*Pennisetum purpureum* schum.) suplementado com diferentes farelos. **Arquivos do Instituto de Biologia**, v.75, n.3, p. 379-383, 2008.

MINOTTO, E.; BERNARDI, E.; ROSA, F. O.; NASCIMENTO, J. S. Desenvolvimento micelial *in vitro* de *Pleurotus* sp. em palha de arroz suplementada com serragem de couro. **Arquivo do Instituto Biológico**, v.78, n.4, p.609-613, 2011.

MODA, E. M. **Produção de *Pleurotus sajor-caju* em bagaço-de-cana-de-açúcar lavado e o uso de aditivos visando sua conservação “in natura”**. Piracicaba, 2003. 100 p. Dissertação

(Mestrado em Ciencia e Tecnologia de Alimentos ) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba. 2003. [Orientador: Profa. Dra. Marta Helena Fillet Spoto].

MOKOCHINSKI, J. B. et al. Biomass and Sterol Production from Vegetal Substrate Fermentation Using *Agaricus brasiliensis*. **Journal of Food Quality**, 2015.

MUZZI, M. R. S.; NEVES, L.; DE PAULA, M. T.; BRITO, M.; BRAVO, M.; DINIZ, N. **Taxonomia de criptógamas fungos: filo Basidiomycota**. Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2013. Disponível em<  
<http://www.terrabrasilis.org.br/ecotecadigital/pdf/taxonomia-de-criptogmas-fungos-filo-basidiomycota.pdf>> Acesso em: 15 de Agosto de 2017.

OLIVEIRA, A. C. D. et al. Comparação entre três bioprocessos para a produção de enzimas proteolíticas utilizando resíduos agroindustriais. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, v. 6, n. 2, 2012.

OMARINI, A.; NEPOTE, V.; GROSSO, N. R.; ZYGADLO, J. A.; ALBERTÓ, E. Sensory analysis and fruiting bodies characterisation of the edible mushrooms *Pleurotus ostreatus* and *Polyporus tenuiculus* obtained on leaf waste from the essential oil production industry. **International Journal of Food Science and Technology**, v.45, p.466–474, 2010.

PALHETA, R. A.; VIEIRA, J. N.; NEVES, K. C. S.; TEIXEIRA, M. F. S. Crescimento micelial vertical de duas espécies de *Pleurotus* em resíduo agroindustrial da Amazônia utilizando planejamento fatorial. **Caderno de Pesquisa Série Biologia**, v. 23, n. 3, p.52-60, 2011.

PINHEIRO, T. **Produção de lipases por fermentação em estado sólido e fermentação submersa utilizando *Penicillium verrucosum* como micro-organismo**. Erechim, 2006. 120 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) - Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões, Rio Grande do Sul, 2006.

RAVEN, P.H., EVERT, R.F. & EICHHORN, S.E. 2014. *Biologia Vegetal*, 8a. ed. Coord. Trad. J.E.Kraus. **Editora Guanabara Koogan**, Rio de Janeiro.



REIS, D. L. **Avaliação da qualidade microbiológica de carnes moídas “in natura” comercializada em supermercados de Brasília.** 2010. 56 p. Trabalho de Conclusão de Curso (Pós-graduação *Lato sensu* em Higiene e Inspeção de Produtos de Origem Animal) - Instituto Qualittas, Universidade Castelo Branco, Brasília, 2010.

REIS, M. F.; DUCCA, F.; FERDINANDI, D. M.; ZONETTI, P. C.; ROSADO, F. R. Análise de substratos alternativos para o cultivo de *Pleurotus ostreatoroseus* e *Pleurotus florida*. **Revista em Agronegócios e Meio Ambiente**, v.3, n.2, p. 79-91, 2010.

RIVAS, P. M. S.; PEREIRA FILHO, A. A.; SANTOS, F. A. S.; ROSA, I. G. Avaliação de substratos pectocelulósicos para o cultivo de cogumelos comestíveis do gênero *Pleurotus sp.* (Agaricales). **Cadernos de Pesquisa (UFMA)**, v.17, n.3, 2010.

ROSADO, F.R.; GERMANO, S.; CARBONERO, E.R.; COSTA, S.M.G.; IACOMINI, M.; KEMMELMEIER, C. Biomass and exopolysaccharide production in submerged cultures of *Pleurotus ostreatoroseus* Sing. and *Pleurotus ostreatus* “florida” (Jack.:Fr.) Kummer. J. **Basic Microbiol.**, v. 43, p. 230-237, 2003a.

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

SALES-CAMPOS, C.; CARVALHO, C.S.M. DE; AGUIAR, L.V.B.; ANDRADE, M.C.N. Cinética micelial dos fungos comestíveis *Pleurotus ostreatus* e *Lentinula edodes* em resíduos lignocelulósicos. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 78, p. 141-145, 2011.

SILVA, L. S. C. **Produção de proteases neutras de cogumelos para aplicação na indústria de detergente.** Manaus, 2015 57 f. Dissertação (Mestrado em Diversidade Biológica) - Universidade Federal do Amazonas, Manaus, 2015. [Orientadora: Maria Francisca Simas Teixeira].

STAMENTS, P. Can mushrooms help save the world? **Explorer**, v. 2, p. 153-156, 2006.

TACO, **Tabela brasileira de composição de alimentos**.- 4. ed. rev. e ampl. Campinas: NEPA- UNICAMP, 2011. 161 p. Disponível em: <<https://www.unicamp.br/nepa/taco/contar/taco>>. Acesso em 18 de Outubro de 2017.

TAVARES, L. B. B. *et al.* **Produção de biocompósito com macrofungo e resíduo de palmeira**. In: VII Simpósio Internacional Sobre Cogumelos no Brasil, Manaus, 2013.

UDDIN, M. N.; YESMIN, S.; KHAN, M. A.; TANIA, M.; MOONMOON, M.; AHMED, S. Production of oyster mushrooms in different seasonal conditions of Bangladesh. **Journal of Scientific Research**, v. 3, n. 1, p. 161-167, 2011.

ZERVAKIS, G.; PHILIPPOUSSIS, A.; IOANNIDOU, S.; DIAMANTOPOUPOU, P. Mycelium growth kinetics and optimal temperature conditions for the cultivation of edible mushroom species lignocellulosic substrates. **Folia Microbiology**, v. 46, p. 231- 234, 2001.

ZHANG, Y.; LIU, Z.; NG, T. B.; CHEN, Z.; QIAO, W.; LIU, FANG. Purification and characterization of a novel antitumor protein with antioxidant and deoxyribonuclease activity from edible mushroom *Pholiota nameko*. **Biochimie**, p. 28–37, 2014.

ZOU, Y.; JIANG, A.; TIAN, M. Extraction optimization of antioxidant polysaccharides from *Auricularia auricula* fruiting bodies. **Food Science and Technology**, p. 1–6, 2015.