UNIVERSIDADE DO ESTADO DO AMAZONAS
UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIODIVERSIDADE E BIOTECNOLOGIA DA AMAZÔNIA LEGAL - BIONORTE

PADRONIZAÇÃO DO CICLO DO BIOPROCESSO DE DUAS ESPÉCIES DE COGUMELOS DO ECOSSISTEMA AMAZÔNICO

MARIA DO PERPÉTUO SOCORRO DE LIMA VERDE COELHO

Manaus - AM
2021

MARIA DO PERPÉTUO SOCORRO DE LIMA VERDE COELHO

PADRONIZAÇÃO DO CICLO DO BIOPROCESSO DE DUAS ESPÉCIES DE COGUMELOS DO ECOSSISTEMA AMAZÔNICO

Tese apresentada ao curso de Doutorado do Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Biotecnologia da Amazônia Legal, Rede BIONORTE, Universidade do Estado do Amazonas, como requisito final para a obtenção do título de Doutora em Biodiversidade e Biotecnologia.

Área de concentração: Conservação e uso sustentável da biodiversidade

Orientadora: Profa. Dra. Maria Francisca Simas Teixeira

Manaus - AM
2021

Ficha Catalográfica

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

C672p

Coelho, Maria do Perpétuo Socorro de Lima Verde
Padronização do ciclo do bioprocesso de duas espécies de cogumelos do ecossistema amazônico / Maria do Perpétuo Socorro de Lima Verde Coelho . 2021
76 f.: il. color; 31 cm.

Orientadora: Maria Francisca Simas Teixeira
Tese (Doutorado em Biodiversidade e Biotecnologia da Rede Bionorte) - Universidade Federal do Amazonas.

1. cogumelos comestíveis. 2. Pleurotus ostreatoroseus. 3. Pleurotus albidus. 4. potencial biotecnológico. I. Teixeira, Maria Francisca Simas. II. Universidade Federal do Amazonas III. Título

MARIA DO PERPETUO SOCORRO DE LIMA VERDE COELHO

PADRONIZAÇÃO DO CICLO DO BIOPROCESSO DE DUAS ESPÉCIES DE COGUMELOS DO ECOSSISTEMA AMAZÔNICO.

Tese de doutorado apresentada ao Curso de Doutorado do Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Biotecnologia da Rede de Biodiversidade e Biotecnologia da Amazônia Legal, na Universidade do Estado do Amazonas, como requisito para obtenção do título de Doutor em Biodiversidade e Conservação.

Orientador (a): **Prof.ª Dra. Maria Francisca Simas Teixeira**

Banca Examinadora:

Prof.ª Dra. Maria Francisca Simas Teixeira
Presidente (UFAM)

Prof.ª Dra. Waldireny Caldas Rocha
Membro Titular Externo (UFAM)

Prof. Dr. Dimas José Lasmar
Membro Titular Interno (UFAM)

Prof.ª Dra. Ana Lúcia Delgado Assad
Membro Titular Externo (UFAM)

Prof. Dr. Jair Putzke
Membro Titular Externo (UNIPAMPA)

Prof.ª Dra. Cintia Mara Costa de Oliveira
Membro Suplente interno (UFAM)

Prof.ª. Dra. Ires Paula de Andrade Miranda
Membro Suplente Interno (INPA)

DEDICATÓRIA

Aos meus pais (*in memoriam*) que me ensinaram o simples de ser: amor, humildade e respeito ao próximo.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por todas as bênçãos, pela perseverança concedida ao longo de meus estudos.

Aos meus pais, Paulo de Lima Verde e Olivina Soares de Lima Verde (*In memoriam*) e aos irmãos João Batista Soares de Lima Verde e Paulo de Lima Verde Junior (*In memoriam*).

À minha irmã Grace Anne de Souza Soares, que esteve ao meu lado nos momentos mais alegres e mais difíceis até o momento.

Aos meus filhos Paula Lima Verde Coelho, Vitor Lima Verde Coelho e Fábio Lima Verde Coelho, para mostrar-lhes que tudo está ao nosso alcance, basta ter boa vontade e querer.

Ao meu esposo, Antônio José de Almeida Coelho, pelo companheirismo, compreensão, respeito e amor.

À toda a família, tios, primo (as), sogra, cunhada (os), sobrinha (os) pelo apoio e incentivo.

À minha orientadora, Profa. Dra. Maria Francisca Simas Teixeira, pela dedicação, disponibilidade e conhecimento compartilhado.

À Universidade Federal do Amazonas e à Universidade do Estado do Amazonas pela oportunidade concedida.

Aos professores e colegas do Programa de Doutorado em Biotecnologia, em especial, aos colegas do Laboratório de Micologia Industrial e Médica / Coleção de Cultura DPUA/UFAM.

Aos amigos de todos os tempos, da Pró-reitora de Inovação Tecnológica - PROTEC/UFAM, pelo apoio e incentivo.

“Deus nos concede, a cada dia, uma página de vida nova no livro do tempo. Aquilo que colocarmos nela, corre por nossa conta”.

Chico Xavier.

COELHO, Maria do Perpétuo Socorro de Lima Verde. **Padronização do ciclo do bioprocesso de duas espécies de cogumelos do ecossistema amazônico**. 2021. 76f. Tese (Doutorado em Biodiversidade e Biotecnologia- Rede BIONORTE) - Universidade Estadual do Amazonas, Manaus, 2021.

RESUMO

Os cogumelos comestíveis são alimentos ricos em nutrientes consumidos desde a antiguidade, atrativos ao paladar e promotores de vários benefícios à saúde. Entre esses cogumelos, *Pleurotus* spp é uma das mais atrativas economicamente. *Pleurotus ostreatoroseus* e *P. albidus* são espécies brasileiras de ocorrências no Amazonas. O objetivo desta tese foi caracterizar os fluxos operacionais dessas linhagens em uma questão: Como caracterizar a padronização do fluxo operacional de um processo ecoamigável em ambiente controlado? Para responder a esse questionamento, a tese foi estruturada em capítulos. O primeiro foi uma revisão bibliográfica, para fundamentar os acontecimentos empíricos, em ambiente controlado com as espécies do estudo. O segundo foi um artigo publicado, de atividade prática, em que foram selecionados meios de cultivo ao desenvolvimento da cultura matriz de *P. ostreatoroseus* DPUA 1720 e avaliado o potencial biotecnológico dessa espécie como fonte de hidrolases. E o terceiro capítulo foi demonstrar os fluxos operacionais de *Pleurotus ostreatoroseus* e *P. albidus*, cultivados em resíduos da fruticultura amazônica pela tecnologia da fermentação no estado sólido. Metodologias diferentes foram aplicadas. Levantamento bibliográfico, pesquisa experimental e um exploratório estudo de caso. Como resultados do primeiro capítulo, foram expostas diversas experiências científicas com as espécies da pesquisa. No segundo capítulo de atividade empírica, foram selecionados os meios de cultura CEIN+YE e SAB+YE, como meios ao desenvolvimento da cultura matriz de *P. ostreatoroseus,* e o potencial biotecnológico identificado foi a excreção de hidrolases, em diferentes meios de cultivo, com potencial para uso na indústria de alimentos. O resultado do terceiro capítulo foi a caracterização dos fluxos operacionais, padronizando pontos essenciais do bioprocesso das espécies do ecossistema amazônico.

Palavras-chave: cogumelos comestíveis; *Pleurotus ostreatoroseus; P. albidus;* potencial biotecnológico.

COELHO, Maria do Perpétuo Socorro de Lima Verde. **Standardization of the bioprocess cycle of two species of mushrooms from the Amazonian ecosystem**. 2021. Thesis (Doutorado em Biodiversidade e Biotecnologia – Rede BIONORTE) - Universidade Estadual do Amazonas, Manaus, 2021.

ABSTRACT

Edible mushrooms are nutriente rich foods consumed since ancient times, attractive to the palate and promoting several health benefits. Among these mushrooms, *Pleurotus* spp are one of the most economically attractive. *Pleurotus ostreatoroseus* and *P. albidus* are Brazilian species that occur in Amazonas. The objective of the thesis was to characterize the operational flows of these strains, in one question: How to characterize the standardization of the operational flow of an eco-friendly process in a controlled environment? To answer this question, the thesis was structured in chapters. The first was a literature review to support empirical events in a controlled environment with the species under study. The second was a published article, of practical activity, in which culture media were selected for the development of the matrix culture of P. ostreatoroseus DPUA 1720 and the biotechnological potential of this species as a source of hydrolases was evaluated. And the third chapter was to demonstrate the operational flows of Pleurotus ostreatoroseus and P. albidus, cultivated in Amazonian fruit production residues by solid state fermentation technology. Different methodologies were applied, bibliographic survey, experimental research and an exploratory case study. As results of the first chapter, several scientific experiences with the research species were exposed. In the second chapter of empirical activity, the CEIN+YE and SAB+YE culture media were selected as means for the development of the matrix culture of P. ostreatoroseus, and the identified biotechnological potential was the excretion of hydrolases in different culture media with potential for use in the food industry. The result of the third chapter was the characterization of operational flows, standardizing essential points of the bioprocess of species in the Amazon ecosystem.

Keywords: Edible mushrooms; *Pleurotus ostreatoroseus; P. albidus;* Biotechnological potential.

LISTA FIGURAS

CAPÍTULO I

Figura 1 - Estrutura do basidioma de *Pleurotus* 22
Figura 2 - Múltiplas cores de *Pleurotus* sp 23
Figura 3 - Espécies de *Pleurotus* do bioma amazônico 26

CAPÍTULO II

Figura 1 - Densidade micelial de *P. ostreatoroseus* em diferentes meios de cultivo 53
Figura 2 - Atividade de amilase, celulase e protease de P. ostreatoroseus em meio de cultivo suplementado com extrato de levedura (YE) 0,5% (p/v) 54
Figura 3 - Efeito do pH na atividade proteolítica de *P. ostreatoroseus* 56
Figura 4 - Efeito da temperatura na atividade proteolítica de *P. ostreatoroseus* 56

CAPÍTULO III

Figura 1 - Fluxograma da produção de *P. ostreatoroseus* DPUA 1720 em resíduo lignocelulósico suplementado com grãos de cereais. 66
Figura 2 - Produção de *P. ostreatoroseus* DPUA 1720: (A) em exocarpo de cupuaçu+farelo de arroz (CC+FA com grãos de trigo; (B) Surgimento dos primórdios; (C) Primórdios e início do crescimento dos basidiomas; (D) Basidiomas maduros (E) = (Primeiro Fluxo). 67
Figura 3 - Produção de *P.albidus* DPUA 1692: (A) em exocarpo de cupuaçu+ farelo de arroz (CC+FA), inoculado com *spwan* preparado com grãos de trigo; (B) Surgimento dos primórdios; (C) crescimento dos basidiomas; (D) Basidiomas maduros (E) (Primeiro Fluxo). 68

LISTA DE QUADROS

CAPÍTULO I

Quadro 1 - Características de *Pleurotus* spp 23
Quadro 2 - Espécies do gênero *Pleurotus* enfatizadas pelos pesquisadores..... 24
Quadro 3 - Trabalhos do Grupo de Pesquisa sobre P. albidus 1692 e P. ostreatoroseus, 1720 34

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO II

Tabela 1 - Média da *v*elocidade do crescimento micelial radial de *P. ostreatoroseus* cultivado, a 25 °C por oito dias, em meios de cultura suplementados com extrato de levedura (YE) 0,5% (p/v).....52

Tabela 2 - Atividade de protease por fermentação submersa. Influência do tempo de fermentação e do meio de cultivo na atividade proteolítica de *P. ostreatoroseus*.....55

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

APA	Área de Proteção Ambiental
BDA	Ágar Batata Dextrose
CBD	Caldo Batata Dextrose
CE-DAD	
CEINYE	Cará-de-espinho *in natura*
CEDYE	Cará-de-espinho desidratado
DNA	Àcido desoxirribonucleico
DPUA	Departamento de Parasitologia da Universidade do Amazonas
EPS	Expolissacarídeo
ITS	Internal Transcribed Spacer
LSU	Large Subunit do Rdna
mL	Mililitro
mm	Milímetro
p/v	Peso/volume
POP	Protocolo operacional padrão
SAB	Ágar Sabouraud
YE	Extrato de levedura
UFAM	Universidade Federal do Amazonas
VCR	Velocidade do crescimento radial
WOS	Web of Science
µm	Micromolar

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO GERAL 15
2 OBJETIVOS 18
2.1 OBJETIVO GERAL 18
2.1.1 Objetivos Específicos 18
3 ESTRUTURA DA TESE 19
4 CAPÍTULO I (Referencial Teórico) 20
4.1 INTRODUÇÃO 22
4.2 METODOLOGIA 25
4.3 RESULTADOS E DISCUSSÕES 26
4.3.1 Complexidades de *Pleurotus* spp 26
4.3.1.1 *Pleurotus ostreatoroseus* 27
4.3.1.2 *Pleurotus albidus* 28
4.3.2 Importância biotecnológica e nutricional das espécies *P. ostreatoroseus* e *P. albidus* 29
4.3.3 Cultivo de *P. ostreatoroseus* e *P. Albidus* 31
4.3.4 Estudos com as espécies *P. ostreatoroseus* e *P. albidus* e resultados do grupo de pesquisa 33
4.4 CONCLUSÃO 35
REFERÊNCIAS 36
5 CAPÍTULO II - Alternativa de fontes nutricionais para o desenvolvimento da fase micelial e à produção de hidrolases por cogumelo comestível de floresta tropical 45
5.1 INTRODUÇÃO 48
5.2 MATERIAL E MÉTODOS 49
5.2.1 Cogumelo 49
5.2.2 Manutenção da cultura matriz 49
5.2.3 Seleção de meios de cultura para o crescimento de *P. ostreatoroseus* 49
5.2.3.1 Determinação do crescimento micelial radial de *P. ostreatoroseus* 49
5.2.4 Ensaio enzimático 50
5.2.4.1 Avaliação da atividade de amilase, celulase e protease por *P. ostreatoroseus* em meio sólido 50
5.2.4.2 Fermentação Submersa 50

5.2.4.2.1 *Produção de proteases em meio líquido: influência do meio de cultivo e do tempo de fermentação* 50
5.2.5 Determinação quantitativa da atividade de proteases 51
5.2.6 Caracterização bioquímica das proteases 51
5.2.7 Análise estatística 51
5.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO 51
5.4 CONCLUSÃO 57
REFERÊNCIAS 58
6 CAPÍTULO III - Ciclo de Produção de Cogumelos Comestíveis cultivados em resíduos lignocelulósicos da fruticultura Amazônica: um estudo de caso em Manaus, Amazonas, Brasil 62
6.1 INTRODUÇÃO 64
6.2 MATERIAL E MÉTODOS 65
6.3 RESULTADO E DISCUSSÃO 65
6.4 CONSIDERAÇÕES FINAIS 69
REFERÊNCIAS 71
7 CONCLUSÃO DA TESE 74
7.1 RESULTADOS DA PESQUISA QUE ATENDEM AOS OBJETIVOS 74
8 PERSPECTIVAS FUTURAS 76

1 INTRODUÇÃO GERAL

O Reino fúngico é composto de diversas formas de vida. Há uma estimativa de 2,2 a 3,8 milhões de espécies presentes, no globo terrestre, em múltiplos ambientes. De forma natural, os fungos são decompositores dos ecossistemas aquáticos e terrestres, possuem capacidade de adaptação a diferentes fatores ambientais, como: temperatura, umidade, concentração de oxigênio e outros (XU, 2016; HAWKSWORTH e LUCKING, 2017; AZEVEDO e BARATA, 2018; NILSSON *et al.*, 2019).

Os cogumelos são organismos vivos, encontrados na natureza e em acervos de coleções biológicas *in situ*, para investigações científicas (ARANDA, 2014); fazem parte do Reino Fungi e, biologicamente, nomeados como macrofungos, por serem de fácil visibilidade.

Cogumelos comestíveis são alimentos notáveis, ricos em nutrientes, de baixo teor de gordura, consumidos no oriente há milênios de anos (REIS e ROCHA, 2015; EL-SHEIKHA e HU, 2018). Complementar às suas propriedades nutricionais, diversas espécies são promotoras de vários benefícios, para a saúde humana, tais como antioxidantes, antitumorais, antibióticos, antifúngicos e anti-inflamatórios (CHEUNG, 2010; AO *et al*., 2016; WANG, 2016).

Neste contexto, a produção de cogumelos comestíveis tornou-se atrativa economicamente. Das 300 espécies de cogumelos conhecidas, apenas 10% foram domesticadas e produzidas comercialmente (TAVARES, 2015; PICORNELL-BUENDÍA *et al*., 2016; PUTZKE et al., 2020).

Royse *et al*., (2017) divulgaram que *Lentinus edodes*, *Pleurotus*, *Auricularia*, *Agaricus* e *Flammulina* respondem por 85% do total mundial de cogumelos comestíveis cultivados. Embora, no mercado mundial, os cogumelos comestíveis estejam em evolução, a produção atual, ainda, não é suficiente para atender à demanda para uso gastronômico e medicinal (PICORNELL-BUENDÍA *et al*., 2016; SOUZA *et al*., 2016; MINGYI *et al*., 2019).

A importância econômica dos fungos exibe uma ampla perspectiva de futuro próspero voltada para produção de cogumelos comestíveis (AZEVEDO e BARATA, 2018). Segundo Research & Markets, (2017), o mercado mundial desses cogumelos movimenta 42 bilhões de dólares anuais, com prospecção para o ano 2023 de US $ 62,2 bilhões (PRESCOTT *et al*., 2018).

O mercado prospectivo de cogumelos comestíveis tem sido fortalecido com patentes envolvendo aplicação desses fungos, em diferentes áreas de atuação, em processos

relacionados à Biotecnologia, Bioquímica, Saúde, Medicina e produção de alimentos funcionais (CAMASSOLA *et al*., 2019; JARAMILLO DE ECHEVERRI, *et al*., 2019).

Coreia do Sul, Taiwan, Tailândia, Vietnã e Índia são os maiores produtores de cogumelos comestíveis, mas quem tem liderança de produção e consumo é a China (ROYSE, 2014; CHANG e WASSER, 2017; ROYSE *et al*., 2017). Na Europa e na América do Norte, são a Itália e os Estados Unidos, respectivamente (CARRASCO-GONZÀLES *et al*., 2017; GOMES, 2018).

No Brasil, as regiões Sul e Sudeste concentram a produção de cogumelos comestíveis (KUMANAYA *et al*., 2018; RABUSKE *et al*., 2019), entretanto estudos desenvolvidos, na Região Norte, em específico, no Estado do Amazonas, sinalizam a viabilidade de produção de cogumelos comestíveis, como atividade sustentável, de baixo custo e promissora economicamente (KIRSCH, *et al*., 2013; FONSECA *et al*., 2014).

A produção de cogumelos comestíveis são processos biotecnológicos, já delineados na literatura, com o propósito de melhorar sua produtividade e qualidade (SALES-CAMPOS, 2008; SOCCOL *et al*., 2013). Porém os métodos em ambiente controlado e as etapas são específicas e, independente de cada espécie, definidas em parâmetros das condições nutritivas e ambientais, de forma que as atividades não comprometam procedimentos e o desenvolvimento micelial e/ou dos corpos de frutificação (SÁNCHEZ, 2010; BONONI *et al*., 2015; DUARTE, 2020).

O processo de cultivo de cogumelos comestíveis, em escala laboratorial, envolve várias etapas, como de uma cadeia tecnológica e produtiva, em síntese, esse processo tem início com a produção da matriz primária, preparo do *spawn* e dos substratos para a inoculação e no final a colheita dos cogumelos (OLIVEIRA, 2018)

Na produção de cogumelos comestíveis, em pequenas localidades, em geral, os substratos, são predominados com a reutilização de resíduos agroindustriais regionais para o crescimento de basidiomas, fato esse que favorece meios de subsistência sustentável para essas comunidades (CHIOZA e OHGA, 2014; HALUEENDO, 2016). Em experimentos, Putzke *et al* (2020) utilizaram colmos de bambu verde, de fácil obtenção, como invólucro para o cultivo de cogumelos do tipo shimeiji.

Dessa forma, informações sobre os parâmetros de produção de cogumelos do bioma amazônico são essenciais, para projetar um fluxo produtivo, como uma alternativa de novos alimentos, de padrão genético diferente do usual, para atender a nichos de mercado local, nacional e outros segmentos.

Sendo assim, a técnica de produção de cogumelos comestíveis ou *know how* desse bioprocesso poderá tornar-se vantagem competitiva, se conduzida dentro dos parâmetros para cada espécie. Diante disso, neste estudo, apresenta-se a seguinte questão: Como caracterizar a padronização do fluxo operacional de um processo ecoamigável em ambiente controlado?

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Caracterizar os fluxos operacionais de *Pleurotus ostreatoroseus* e *P. albidus*, realizados em ambiente controlado ao desenvolvimento de bioprodutos de importância para a indústria farmacêutica e de alimentos.

2.1.1 Objetivos Específicos

a) Selecionar os meios de cultivo para o desenvolvimento da cultura matriz das espécies de cogumelos investigadas;
b) Avaliar o potencial biotecnológico dos cogumelos cultivados em seis meios de cultura sólido;
c) Identificar as etapas do ciclo de produção em resíduos lignocelulósicos de *Pleurotus ostreatoroseus* e *Pleurotus albidus;*
d) Sistematizar as etapas do ciclo produtivo das espécies selecionadas, expondo os métodos e os aspectos dos cogumelos que são relevantes para negociação.

3 ESTRUTURA DA TESE

Para atender os objetivos e responder ao questionamento, esta tese está estruturada em três capítulos, em formato de artigos:

a) **Capítulo I -** Referencial Teórico;
b) **Capítulo II -** Alternativa de fontes nutricionais para o desenvolvimento da fase micelial e produção de hidrolases por cogumelo comestível de floresta tropical (Artigo publicado);
c) **Capítulo III -** Ciclo de Produção de Cogumelos Comestíveis cultivados em resíduos lignocelulósicos da fruticultura Amazônica: um estudo de caso em Manaus, Amazonas, Brasil. (Artigo foi submetido para publicação, aguardando o aceite).

4 CAPÍTULO I (REFERENCIAL TEÓRICO)

Ocorrências científicas de *Pleurotus ostreatoroseus* e *Pleurotus albidus:* uma revisão

Maria do Perpétuo Socorro Lima Verde; Maria Francisca Simas Teixeira.

RESUMO

Os cogumelos comestíveis são sazonais, ocupam diversos habitats nos ecossistemas florestais. Os *Pleurotus* spp são comestíveis de distribuição mundial e ocorrência em ecossistemas de região de clima tropical; são de fácil cultivo, de tecnologia simples de produção, crescem rápido e artificialmente em vários substratos. O objetivo da pesquisa foi realizar uma revisão bibliográfica de duas espécies do gênero *Pleurotus*, nos últimos 20 anos, descrevendo experiências com *P. ostreatoroseus* e *P. albidus*. A investigação foi realizada em plataformas digitais do Portal de Periódicos Capes, na *Web of Science*, usando os nomes científicos, como termos-chave. Foram coletados 21 registros para *P. ostreatoroseus* e 18 para *P. albidus*. Para o termo "*Pleurotus*", foram encontrados 2.251 artigos, mas em cinco anos. Como resultados, vários pontos foram destacados: complexidades de identificação com *Pleurotus* spp, apresentação de pontos taxonômicos de *Pleurotus ostreatoroseus* e *P. albidus*, importância biotecnológica, cultivos sobre as espécies do estudo, síntese dos principais estudos com as espécies *i*nvestigadas em resultados do grupo de pesquisa. Como base na pesquisa, evidenciaram-se as espécies do bioma Amazônico, ainda pouco exploradas e tão prospectiva quanto as outras espécies do mesmo gênero.

Palavras-chave: Cogumelos comestíveis; *Pleurotus; Pleurotus ostreatoroseus; Pleurotus albidus.*

ABSTRACT

Edible mushrooms are seasonal, occupying different habitats in forest ecosystems. *Pleurotus* spp are edibles with worldwide distribution and occur in tropical climate region ecosystems, are easy to grow, have simple production technology, grow quickly and artificially in various substrates. The objective of the research was to carry out a bibliographical review of two species of the genus *Pleurotus*, in the last 20 years, describing experiences with P. ostreatoroseus and P. albidus. The investigation was carried out on digital platforms of the Capes Journal Portal, on the Web of Science, using scientific names as key terms. Twenty-one records were collected for P. ostreatoroseus, and 18 for P. albidus. For the term "*Pleurotus*" 2,251 articles were found, but in five years. As results, several points were highlighted: Identification complexities with *Pleurotus* spp, presentation of taxonomic points of *Pleurotus* ostreatoroseus and P. albidus, biotechnological importance, cultures on the study species, synthesis of the main studies with the investigated species in results of the research group . As a basis for the research, species from the Amazon biome are evidenced, still little explored and as prospective as other species of the same genus.

Key words: Edible mushrooms; *Pleurotus; Pleurotus ostreatoroseus; Pleurotus albidus.*

4.1 INTRODUÇÃO

Cogumelos comestíveis são reconhecidos como alimento de sabor refinado e de alto valor nutricional, contêm proteínas (20-30% da biomassa seca), carboidratos, minerais, vitaminas, aminoácidos essenciais, baixo teor de gorduras e são de fonte de fibra dietética (AO *et al*., 2016; SÜFER *et al*., 2016; GARGANO *et al*., 2017; GRIMM *et al*., 2018; MAGALHÃES *et al*., 2018; OLIVEIRA e NAOZUKA, 2019).

Pleurotus spp do Reino Fungi, da Divisão Basidiomycota, ordem Agaricales, família Pleurotaceae, são comestíveis de distribuição mundial e ocorrência em ecossistemas de região de clima tropical. Na natureza se desenvolvem em troncos, em estados decomposição ou em pedaços de madeira formando camadas sobrepostas (FONSECA *et al*., 2015). A Figura 1 demonstra a estrutura do basidioma de *Pleurotus* sp. cultivado em resíduo lignocelulósico da Amazônia.

Figura 1 - Estrutura do basidioma de *Pleurotus*

Fonte: Coleção de Culturas DPUA/UFAM

Pleurotus spp compreende, aproximadamente, 40 espécies conhecidas popularmente como cogumelo ostra, crescem em diversos substratos (madeira, serragem, entre outros), exibindo múltiplas cores (Figura 2), branco, preto, cinza-escuro, marrom, amarelo e salmão, em função dos fatores intrínsecos e extrínsecos (AISHAH e ROSLI, 2013; FONSECA, 2013; OLUWAFEMI *et al*., 2016; TELLEZ-TÉLLEZ e DÍAZ-GODÍNEZ, 2019).

Figura 2 - Múltiplas cores de *Pleurotus* sp

Fonte: Fonseca (2013)

Segundo Bellettini *et al*. (2019), as espécies *P. ostreatus*, *P. eryngii*, *P. pulmonarius*, *P. djamor*, *P. sajor-caju*, *P. cystidiosus*, *P. citrinopileatus* e *P. cornucopiae* são cultivadas comercialmente e valorizadas economicamente, em função dos nutrientes. Em geral, apresentam em base seca, proteína bruta de 7 a 37%, fibras de 12 a 39%, carboidratos 32 a 85%, lipídios de 1 a 4%, vitaminas, minerais e compostos bioativos (RAMPINELLI *et al*., 2010; FONSECA, 2013; VALVERDE *et al*., 2015).

Ressalta-se que essa composição nutricional pode variar, de acordo com as características genéticas da espécie, composição do meio de crescimento, tempo de colheita, técnicas de manipulação, cultivo e condições dos substratos utilizados (VALVERDE *et al*., 2015; BACH *et al*., 2017; JIN *et al*., 2018; LAVELLI *et al*., 2018).

Em síntese, *Pleurotus* spp são de fácil cultivo, de tecnologia simples de produção, crescem rápido e artificialmente em vários substratos. São popularmente conhecidos pelo perfil gastronômico e propriedades medicinais apresentadas no Quadro 1, de ação qualitativas à saúde humana (FONSECA, 2013; INACIO *et al*., 2015; GAMBATO *et al*., 2016; KAPAHI e SACHDEVA, 2017; IOSSI *et al*., 2018).

Quadro 1 - Características de *Pleurotus* spp

Ação qualitativa	Fontes
- Baixam o nível do colesterol no sangue	Melo, Teles e Santos Junior (2020)
- Substâncias anticancerígenas	Putzke e Putzke (2017); Pazza *et al*. (2019); Gonçalves e Casalvara (2020)
- Fonte de aminoácidos, contendo todos os essenciais e alguns não essenciais	Barbosa *et al*., (2020)
- Minerais como cálcio, potássio, iodo e fósforo	Pazza *et al*., (2019); Sekan *et al*., (2019)
- Vitaminas, entre elas: Vitamina D, riboflavina, tiamina, ácido ascórbico, niacina e algumas relacionadas ao complexo B	Lavelli, *et al*., (2018); Gallotti e Lavelli (2020)
- Nutritivos, usado como produtos dietéticos, nutracêuticos.	Corrêa *et al*., (2015); Brugnari *et al*., (2018)

Fonte: Adaptado de PUTZKE & PUTZKE (2017).

Inúmeras espécies do gênero *Pleurotus* vêm sendo estudadas, cada uma com sua peculiaridade. Pesquisadores têm se dedicado ao avanço do conhecimento para expressar as propriedades promissoras das linhagens (GERN *et al*., 2008; BARBOSA, J. *et al*., 2020). No Quadro 2, mostram-se particularidades relatadas na literatura.

Quadro 2 - Espécies do gênero *Pleurotus* enfatizadas pelos pesquisadores

Espécies	**Particularidades**	**Fontes**
P. calyptratus, P. cornucopiae, P. cystidiosus, P. dryinus, P. eryngii, P. opuntiae, P. ostreatus, P. djamor, P. pulmonarius, P. nebrodensis, P. citrinopileatus	Mais conhecidas e mais estudadas no mundo	Corrêa *et al*., (2016)
P. ostreatus, P. djamor, P. citrinopileatus, P. eryngii, P. tuber-regium, P. pulmonarius, P. nebrodensis, P. cystidiosus, P. cornucopiae e *P. sajor-caju.*	As espécies mais comuns	Carrasco-Gonzàles, Serna-Saldívar e Gutiérrez-Uribe (2017)
P. ostreatus e P. pulmonarius	Econômicas, pelo cultivo em larga escala	Golak-Siwulska, *et al*., (2018)
P. ostreatus var. Flórida, P. sapidus, P. pulmonarius, P. djamor e P. cornucopiae var. citrinopileatus	Potencialidade para aumentar a produção	Iossi *et al*., (2018)
P. ostreatus, P. eryngii, P. sajor-caju e P. pulmonarius.	Alimentares	Lavelli, *et al*., (2018)
P. ostreatus, P. florida, P. flabelltus, P. sajor caju, P. sapidus, P. membranaceous, P. citrinopileatus, P. eous, P. cornucopiae, P. fossulatus, P. eryngii, P. djamor, P. tuber-regium, P. nebrodensis, P. pulmonarius e P. cystidiosus	Comercialmente cultivadas	Patar, Chandra e Dhakad, (2018)
P. agaves, P. albidus, P. araucariicola, P. calyx, P. cornucopiae, P. cystidiosus, P. djamor, P. driynus, P. favoloides, P. fuscosquamulosus, P. macropus, P. ostreatoroseus, P. ostreatus, P. pulmonarium, P. rickii. P. subtilis	Espécies de *Pleurotus* Encontradas no Brasil	Putzke e Putzke (2019) v.2
P. ostreatus, P. eryngii, P. sajor-caju, P. abalonus, P. djamor, P. florida, P. pulmonarius, P. citrinopileatus.	Bioatividade (polissacarídeos)	Barbosa, J. *et al.*, (2020)

Fonte: Autor

Nesse contexto, observa-se que as espécies *P. ostreatoroseus* e *P. albidus* não fazem parte das espécies mais estudadas, descritas por Corrêa *et al*., (2016) e nem as mais comuns, relatadas por Carrasco-Gonzàles *et al*., (2017) e muito menos das comerciais, relatadas por Patar *et al*., (2018).

Talvez o quadro acima fosse diferente, se a complexidade de identificação, principalmente de *P. ostreatoroseus,* fosse definida, sem a dubiedade como cita (LECHNER *et al*., 2004; ZERVAKIS *et al*., (2019) em que *P. ostreatoroseus* é uma variedade de *P. djamor* var. *roseus* Corner.

Mesmo com essa ambiguidade, *P. ostreatoroseus* e *P. albidus* são espécies nativas do bioma Amazônico, com proeminentes estudos realizados pelo Grupo de pesquisa, Fungos

de interesse industrial e médico da Universidade Federal do Amazonas, na geração de publicações científicas com as espécies desta investigação.

Publicações científicas, advindas de pesquisas com espécies nativas, utilizando resíduos lignocelulósicos, orgânico regional para a elaboração de biocompostos e/ou bioprodutos são processos que incorporam o cultivo de basidiomas para o consumo de forma *in natura* até suplementos alimentares produzidos a partir da biomassa micelial (FONSECA *et al*., 2015; KIRSCH *et al*., 2016). Pode-se considerar uma iniciativa promissora de transformação científica, para que, num futuro próximo, haja uma nova matriz alimentícia, no Estado do Amazonas.

Nesse cenário, esta revisão apresenta compilações de fatos experimentais que possam fundamentar conhecimentos sobre *P. ostreatoroseus* e *P. albidus* de aplicações diretas fundamentadas na biotecnologia e no desenvolvimento de novos produtos.

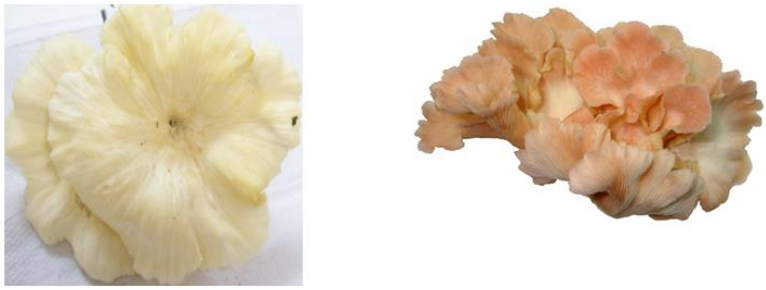
4.2 METODOLOGIA

Revisão bibliográfica, baseada em evidências científicas e processos biotecnológicos. A pesquisa baseou-se em periódicos revisados por pares em plataformas digitais, contratados do Portal de Periódicos Capes, como *Web of Science* (WOS), Science Direct (Elsevier), Springer, PubMed, Scielo e Scopus, Google Scholar, ResearchGate. Para complementar as informações, outras bases públicas foram usadas, banco de teses e dissertações, anais de eventos científicos e repositório institucional.

A base mais usada foi a WOS pelo fato da reprodutibilidade em citações. Os termos de busca usados foram os próprios nomes científicos das espécies, *Pleurotus ostreatoroseus*, *Pleurotus albidus* (Figura 3); a limitação do tempo foi a partir do ano 2000 até o início de 2021.

A metodologia de processos, em ambiente controlado, desta pesquisa, foi relacionada com o mecanismo de produção, que, por meio dos experimentos foram encontrados padrões que se ajustam ou melhoram a variabilidade dos processos de cultivo. Logo a padronização desempenha importante papel no controle e melhoria da qualidade dos métodos empregados (TEIXEIRA *et al*., 2014).

Figura 3 - Espécies de *Pleurotus* do bioma amazônico



(A) *Pleurotus ostretoroseus* e (B) *Pleurotus albidus*
Fonte: Fotos do arquivo da Coleção DPUA/UFAM.

4.3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

O período de levantamento foi de 2000 até janeiro de 2021. Foram coletados 21 artigos para *P. ostreatoroseus* e, para *P. albidus*, foram encontrados 18 registros, que abrangem pesquisas com as espécies. Mesmo assim, alguns documentos, ainda, não tratavam diretamente das espécies, eram apenas citados na discussão ou nas referências. Individualmente para o termo "*Pleurotus"*, foram encontrados mais de 7000 registros, no entanto, para obter artigos mais novos, restringiu-se o período da pesquisa para cinco anos e foram coletados 2.251 documentos. Pelo fato de a coleta ter sido embasada, nos termos científicos das espécies, ficaram de fora as sinonímias e as variedades das espécies.

4.3.1 Complexidades de *Pleurotus* spp

Pleurotus spp fazem parte do grupo das espécies mais produzidas e consumidas de forma global, por serem de fácil cultivo, de alto valor nutricional e muito usados na gastronomia. Contudo a literatura cita a problemática da complexidade de divergência de sequenciamento e distância genética de identificação (RONCERO-RAMOS e DELGADO-ANDRADE, 2017; ZERVAKIS *et al*., 2019)

Alguns estudos foram publicados e enfatizaram essa problemática, por exemplo, Bao e colaboradores (2004) investigaram pela análise molecular o poliformismo de 34 espécies de *Pleurotus*, no entanto a nomenclatura taxonômica e relações filogenéticas não foram solucionadas.

Com *P. albidus* foi diferente. Menolli Junior *et al*., (2014), por intermédio de dados moleculares combinados com a morfologia e compatibilidade sexual elucidaram o status taxonômico e ocorrências de cinco espécies, no Brasil, *Pleurotus albidus P. djamor*, *P.*

fuscosquamulosus, *P. pulmonarius* e *P. rickii*. E, ainda, mostraram a localização geográfica de *P. albidus* nos Estados, Amazonas, Minas Gerais, Paraná e São Paulo.

Zervakis *et al*., (2019) também investigaram relações filogenéticas, combinando caracteres morfológicos e dados sequenciais (ITS, LSU e marcadores RPB2) e encontraram *P. djamor* de alto poliformismo identificado como *P. flabellatus*, *P. opuntiae*, *P. ostreatoroseus*, *P. parsonsiae* e *P. salmoneostramineus*.

Todavia, em estudo recente de Silva *et al*., (2021), os autores apresentaram, pela primeira vez, o sequenciamento do genoma de *P. osteatoroseus*, uma linhagem Amazônica, presente no Acervo da Coleção DPUA da UFAM. Isso significa a evolução e compreensão dos mecanismos moleculares envolvidos, no processo de interação desse cogumelo, atribuindo a esse organismo prospectiva para compostos bioativos, além de servir de base para a montagem de outros genomas da floresta Amazônica.

Assim, ferramentas moleculares estão sendo empregadas e sendo precisas na identificação da complexidade de algumas espécies de *Pleurotus*, pelas impressões digitais de DNA. Dessa maneira, erros de identificação deverão ser cada vez mais esclarecidos (TÉLLEZ-TÉLLEZ e DÍAZ-GODÍNEZ, 2019; BARBOSA, J. *et al*., 2020)

4.3.1.1 Pleurotus ostreatoroseus

P. ostreatoroseus, do filo Basidiomycota, pertence à família Pleurotaceae. Foi descrito por Singer, 1961, a partir de material coletado no Parque dois Irmãos em Recife/PE, Brasil. A espécie é autóctone nos trópicos, facilmente cultivável e cresce bem em amplitudes térmicas. É apreciado pelo sabor diferenciado, assim como sua coloração rosada do corpo frutífero (ROSADO *et al*., 2002; CORRÊA *et al*., 2015).

Putzke e Putzke (2019, p.199) descrevem a espécie *P. ostreatoroseus* como nativa do Brasil, apresentando dados taxonômicos com as seguintes descrições: píleo rosado quando fresco, borda semicircular, estirpe lateral a quase ausente, as lamelas profundamente decurrentes, apresentando contexto rígido (PEREIRA e PUTZKE, 1989)

Comercialmente é conhecido como shimeji rosa, com características do grupo de fungos da podridão branca, eficiente em degradar matéria orgânica que contém lignina e celulose, definido de rápida colonização, que dá resistência contra outros fungos invasores e bactérias. Essa eficiente degradação inclui todos os resíduos orgânicos agroindustriais, ampliando inúmeras formulações de substratos, favorecendo a seleção pela disponibilidade,

qualidade e custos (SOUZA *et al*., 2004; CORRÊA *et al*., 2015; REIS e ROCHA, 2017; RABUSKE *et al*., 2019).

A partir do século XXI, a literatura vem revelando diversificadas experiências com *P. ostreatoroseus*, sendo recrutada para estudos científicos, com perspectiva promissora para produtos alimentícios e compostos bioativos que os valoriza com formulações de ações terapêuticas (CORRÊA *et al*., 2015).

No entanto acredita-se que haja um número maior de fatos empíricos realizados com *P. ostreatoroseus*, mas não publicados, como *P. ostreatoroseus*, em função da instabilidade de identificação precisa da espécie. Fato evidente em alguns autores que consideraram *P. ostreatoroseus* como sinonímia de *P. djamor* (FALCÃO *et al*., 2017; ZERVAKIS *et al*., 2019).

4.3.1.2 Pleurotus albidus

Pleurotus albidus (Berk.) Pegler, do Filo, Basidiomycota, é uma espécie de ocorrência latina, com presença na Argentina, Brasil, Costa Rica, México, Jamaica, Guiana, Martinica e Estados Unidos da América (KIRSH *et al*., 2016; GLOBAL, 2020). Do gênero *Pleurotus*, é muito utilizado para cultivo, em diferentes ambientes e condições climáticas, com uso na bioconversão de materiais residuais, transformando-os em grande quantidade de biomassa (GAMBATO *et al*., 2018) com resultados de alta eficiência biológica e qualidades excelentes como comestível (CASTRO-ALVES *et al*., 2017).

Em pesquisas, essa espécie foi identificada no Brasil, com ocorrências de Norte a Sul, com presença nos estados do Rio Grande do Sul, Amapá e Amazonas (PUTZKE e PUTZKE, 2002, 2019; TEIXEIRA *et al*., 2009). Todavia a especulação com a espécie é, ainda, muito discreta (MENOLLI JUNIOR *et al*., 2014; STOFFEL *et al*., 2019), porém a linhagem já está comprovada pela análise molecular (CANTELE *et al*., 2017).

Segundo Putzke e Putzke (2019), a descrição taxonômica de *Pleurotus albidus* é apresentada de píleo de diâmetro circular, infundibuliforme, sem cor definida de branco a creme, de margem crenada a lacerada. Lamelas brancas profundamente decurrentes, subdistantes a próximas, com estipe afinando para a base.

A descrição morfológica dessa espécie nativa é relatada sempre pela alta eficiência biológica, na busca de estudos mais profícuos para a exploração e aplicação de atividades gastronômicas, nutricionais e medicinais (LECHNER e ALBERTÓ, 2011; KIRSCHI, 2013; GAMBATO *et al*., 2016).

4.3.2 Importância biotecnológica e nutricional das espécies *P. ostreatoroseus* e *P. albidus*

Os fungos são comprovadamente organismos de interesse biotecnológico, amplamente utilizados em atividades industriais, agrícolas, ecológicas e de biotransformação (ABREU *et al*., 2015).

A importância biotecnológica atribuída aos cogumelos está no fato da síntese e excreção de enzimas. Rosado e colaboradores (2002) descreveram características estruturais de dois principais polissacarídeos, *galactan* e *mannan*, extracelulares solúveis em água, produzidos por *P. ostreatoroseus*, motivando o desenvolvimento de drogas moduladoras do sistema imunológico. Esses mesmos polissacarídeos foram detectados em *P. eryngii* (EL-ZAHER *et al*., 2020). Na mesma linha de pesquisa, (ROSADO *et al*., 2003; 2003a) ampliaram os experimentos para a obtenção de expolissacarídeos (EPS). Essas experiências permitiram avançar, no desenvolvimento de vários produtos, para a aplicação em diferentes setores, indústrias químicas e farmacêuticas, indústrias alimentícias da área de laticínios e bebidas alcoólicas (SILVA e MALTA, 2016).

Na contínua investigação, Carbonero *et al*., (2006) isolaram as β-glucanas de corpos frutíferos de duas espécies, *Pleurotus eryngii* e *Pleurotus ostreatoroseus*, que sinalizaram o interesse nessas moléculas, pelo fato de pesquisas anteriores apresentarem atividades antitumorais e anti-inflamatórias. Mas Carbonero e colaboradores (2008), com as mesmas espécies do estudo anterior, insistiram em novos polissacarídeos diferenciados e isolaram um α-galactano linear incomum, entretanto a molécula só foi detectada em *P. eryngii*.

Castro-Alves *et al*., (2017) estudaram os polissacarídeos de basidioma de *P. albidus*. Esse cultivo foi em fermentação sólida e líquida, com resultados satisfatórios de ação modular com os macrófagos (células do sistema imunológico) de efeitos benéficos à saúde.

Castro-Alves e Nascimento (2018) investigaram os efeitos de polissacarídeos (glucanos) de cogumelo comestível de *P. albidus* em células semelhantes à de macrófagos humanos. Os efeitos foram a ação de glucanos em inibir inflamação induzida por lipídios**.** Esses estudos direcionaram *P. albidus* a ser utilizado como alimento funcional e como fonte para a extração de glucanas biologicamente ativas.

Apropriação de estudos anteriores deram a Gracher *et al*. (2010) testarem e avaliarem *in vitro* um *mannogalactan* de *Pleurotus ostreatoroseus* em função das atividades anticoagulante e antitrombótica. Essa investigação, com essa substância anticoagulante,

sinalizou encontrar uma alternativa à heparina (substância com vários efeitos colaterais) com menor riscos à saúde.

Mais adiante, Corrêa e colaboradores (2015) investigaram o corpo de frutificação e massa micelial de *P. ostreatoroseus*. O resultado desse estudo se manifestou em formulações bioativas (extratos etanólicos), caracterizadas como compostos hidrofílicos e lipofílicos, com atividades antioxidante, anti-inflamatória e antimicrobiana, com ausência de citotoxicidade, garantindo às formulações o uso em suplementos dietéticos para fins nutracêuticos.

Kirsch *et al*., (2016), pela biotecnologia, definiram parâmetros físico-químicos de meios sintéticos, para a produção de biomassa, na fermentação líquida de *P. albidus*, em função das caraterísticas gastronômicas e nutricionais.

Por meio da biotecnologia, formulações bioativas foram avaliadas e indicadas à atuação. Brugnari *et al*. (2018) aferiram o extrato aquoso do cogumelo *Pleurotus ostreatoroseus*, cozido, como atividade antioxidante em quatro métodos. Resultados mostraram que, depois de cozidos e digeridos, o cogumelo *P. ostreatoroseus* mantém atividade antioxidante e tem baixo efeito citotóxico.

Diversificando os estudos com *P. albidus*, Abdel-Rahman *et al*., (2018) produziram, purificaram e caracterizaram a enzima de coagulação do leite. Esse processo foi realizado, por meio da fermentação líquida e o meio de cultura usado foi GYP [(glicose, extrato de levedura, peptona, gelatina e pH (5,6)] para a obtenção do extrato e da biomassa. Foram colocados em frascos inoculados com 10 discos miceliais, incubados a 30 °C em agitador rotativo 150 rpm por 72 h.

Outras investigações são destacadas, contudo Campos Junior *et al*., (2019) otimizaram um método simples de extração (hidrólise) e, pela técnica Eletroforese capilar com detector de arranjo de diodos (CE-DAD), para investigar o perfil fenólico de quatro espécies de cogumelos comestíveis (*Agaricus bisporus*, *Pleurotus ostreatus*, *Pleurotus ostreatoroseus* e *Lentinula edodes*). Como resultado, *Pleurotus ostreatoroseus*, o salmão, destacou o ácido p-cumárico (composto fenólico que dá sabor aos alimentos) de propriedades antioxidante, antitumoral, anti-inflamatória, antimicrobiana e de baixa toxidade.

Em resumo, os efeitos das investigações, por meio da biotecnologia, são importantes na formação de alicerces de novos delineadores para empreendimentos, aplicações com as espécies *P. albidus* e *P. ostreatoroseus*.

4.3.3 Cultivo de *P. ostreatoroseus* e *P. Albidus*

O cultivo de *P. ostreatoroseus* e *P. Albidus* vem sendo estudado pela forte adaptação de colonizar substratos de baixo custo, como o reaproveitamento de resíduos agroindustriais. Essa tecnologia de produção, praticada de forma experimental, em laboratório controlado, indubitavelmente poderá ser incorporada, como atividade agrícola e transferida a empreendedores, na diversificação de oferta de produtos comestíveis de alto valor nutritivo, visando a uma alternativa econômica, rentável e profícua.

Diversos estudos têm sido praticados com espécies de *Pleurotus*. No entanto, particularmente, com as espécies investigadas, são pesquisas que buscam conhecer substratos de disponibilidade do local de cultivo.

Scariot *et al*. (2000) avaliaram a composição química do resíduo da produção de basidioma de *P. ostreatoroseus* para uso como adubo químico e ração para animais. O cultivo foi em resíduo de algodão, levando em conta a incubação em umidade de 90%. Resultados foram satisfatórios para uso industrial, caracterizando, assim, o ciclo do material orgânico.

Rosado *et al*. (2002) fizeram testes alternativos com inóculos (semente), usando Batata Dextrose Ágar (BDA) e Batata Dextrose Líquido (BDL), para dar condições de cultivo à *P. ostreatoroseus*. Para a produção de basidioma, a incubação foi de 32 dias, a 25-28 °C, com 80% umidade até a perfuração da embalagem.

Outros cultivos foram sucedendo a Rosado *et al*. (2003), para a extração de diferentes polissacarídeos. O delineamento, para a obtenção de basidioma, o substrato usado foi resíduo de algodão, incubados por 32 dias e mais 60 dias em sala de produção com luz e temperatura a 25 ± 3 °C.

Bernardi *et al*. (2007), testando substratos, para a produção de *spawn*, usaram aveia preta, aveia branca, aveia descascada, azevém, girassol, milho, soja, trigo, farelo de trigo, farelo de soja. O processo técnico foi em tubo e o melhor resultado foi aveia preta e serragem adicionada com 20% de farelo de soja como substrato para inoculo para cultivo de *P. ostreatoroseus*. Essa experiência axênica indicou como alternativa o uso de resíduos agroindustriais, geralmente de baixos custos, a fim de favorecer o retorno econômico do investimento.

Bernardi e colaboradores (2007a), constituindo novos parâmetros para uma colonização forte de *P. ostreatoroseus*, testaram com três espécies, *Pleurotus ostreatus*, *P. ostreatoroseus* e *P. citrinopileatus*, para aferir a produtividade, eficiência biológica e biomassa fresca e seca das espécies. O melhor resultado foi com substrato à base de capim-

elefante, com tempo total de cultivo em 105 dias; a primeira colheita em 25 dias após a inoculação do substrato. Comparativamente, em relação às outras espécies dessa investigação, *P. ostreatoroseus* teve as maiores taxas de produtividade (33,16%), eficiência biológica (132,64%), massa fresca (331,60 g) e a massa seca (26,26%), essa última foi a única menor em relação a *P. ostreatus* que teve a maior taxa de massa seca (31,16 g).

Reis *et al*. (2010), para produzir basidioma de *P. ostreatoroseus*, o substrato foi resíduo de algodão, o tempo de incubação 20 dias a 25 ± 5 °C em seguida e umidificados para o nascimento dos primórdios.

Lechner e Albertó (2011) cultivaram *P. albidus*, nas seguintes condições, o *spawn* foi com grão de trigo, os melhores substratos usados foram palha de trigo e farinha de trigo, ambos usaram carbonato de cálcio. O melhor processo de frutificação foi em sacos, incubados na temperatura de 25 °C, umidade a 75 a 85%, por 19 dias, 3 dias depois os primórdios surgiram. A eficiência biológica foi de 171,3% e a produtividade foi de 513,0%.

Albuquerque, Pfeil e Nascimento (2012) desenvolveram *in vitro*, *Pleurotus ostreatoroseus*, *P. pulmonarius* e *Lentinus sajor-caju*, reativadas em BDA e inoculadas em meios formulados com os resíduos agrícolas, palha de arroz, casca de mamona e casca de amendoim, incubados a 25 °C até a miceliação total. O diâmetro micelial foi avaliado em cinco dias. Estatisticamente, o *P. ostreatoroseus*, no extrato de casca de mamona, colonizou 40,01% da placa. Deduziram que as linhagens são influenciadas pelo meio de cultivo, enquanto a linhagem nativa utilizada não é influenciada pelos meios testados.

A produção de basidioma de *P. sajor-caju* e *P. ostreatoroseus* por Bernardi *et al*., (2013) foi em 45 dias; usaram, como substrato, bagaço de cana-de-açúcar, capim-elefante, resíduo de mamona e casca de arroz, nesse experimento o melhor resultado foi com capim-elefante. O processo de incubação foi à temperatura de 26 ± 2 ºC, em seguida, frascos na câmera de frutificação sob temperaturas em condições de 25 ± 3ºC e umidade relativa do ar de 75 - 90%.

Fonseca (2013) fez um amplo estudo do cultivo de basidioma de *P. ostreatoroseus*, usando resíduos agroindustriais, semente de açaí, casca de abacaxi, coroa de abacaxi, casca de cupuaçu adicionando o farelo de arroz. A melhor composição de substrato, em todos os aspectos, foi a casca de cupuaçu com farelo de arroz. O tempo de miceliação foi de 15,2 dias, mais 4,2 dias os primórdios surgiram e tempo total foi de 42,2 dias de cultivo. Outros parâmetros foram medidos, em média, a eficiência biológica foi de 22,90%, taxa de produtividade 3,55%.

Moraes *et al*. (2015) produziram *P. ostreatoroseus*, em 24 dias, o substrato foi capim-elefante, a incubação foi em 25 ºC, umidade 80% sem de luz. Em seguida, o colonizado transferido para câmara a 22 ºC, umidade 90% com fotoperíodo de 8 h para estimular a frutificação.

Gambato e colaboradores (2016), no cultivo de *P. albidus*, a incubação foi a 24 °C até a miceliação de 32 dias, usando como substrato serragem de pinho mais resíduo de maçã; tiveram a eficiência biológica de 70,4% e produção 23,94%.

Castro-Alves *et al*. (2017) cultivaram basidioma, nas seguintes condições; para o *spawn* usaram grão de trigo, 15 dias a 25 °C para miceliação total. Inoculados no substrato *Brachiaria brizantha* (Hochst.), para a frutificação, a incubação foi a 500 lux e 25 °C.

Bernardi *et al*. (2018), ampliando o cultivo para três espécies *Pleurotus sajor-caju, Pleurotus ostreatoroseus* e *Pleurotus citrinopileatus***,** usaram os mesmos substratos capim-elefante, palha de arroz e resíduo de mamona, os sacos incubados a 25±2 °C até a colonização completa dos substratos. Depois foram transferidos para uma câmara de frutificação 25±2 °C com umidade relativa de 75-90%.

Barbosa e Teixeira (2018) cultivaram em semente de açaí mais farelo de arroz com a incubação a 25 °C até a miceliação do resíduo, em ambiente sem luz, umidade ambiente 80%. Após a indução dos primórdios a 12 °C, os cultivos foram expostos à luz 12 h, 25 °C, ambiente com umidade 90%.

Stoffel *et al*., (2019) cultivaram o micélio de *P. albidus* para introduzir em farinhas e, assim, constituir um produto nutricional com atividade biológica, que denominou de micoproteína.

Para a extração de protease de basidioma de *P. ostreatoroseus*, Barbosa, E. *et al*., (2020) cultivaram, nas seguintes condições, substratos exocarpo de cupuaçu (casca), resíduo de açaí, serragem, farelo de arroz (20%) umidade 60%, pH 6,0. A fermentação foi realizada a 25 °C, na ausência de luz, umidade ambiental de 60 % durante 15 dias.

4.3.4 Estudos com as espécies *P. ostreatoroseus* e *P. albidus* e resultados do grupo de pesquisa

Estudos científicos relativos à produção de cogumelos comestíveis, para aplicações biotecnológicas, mostrados no Quadro - 3, foram desenvolvidos no Grupo de Pesquisa Fungos de interesse industrial e médico da Universidade Federal do Amazonas-UFAM, em Manaus-Amazonas. Nesse segmento, a produção, em pequena escala, vem sendo

realizada desde 2000 e os resultados científicos com as espécies nativas começaram a surgir, a partir de 2013 e, atualmente, compõem bases de dados eletrônicas que evidenciam a produção, a aplicação, resultando em técnicas advindas da biotecnologia.

Segundo Bononi *et al*. (2015), a produção de cogumelos comestíveis é um processo biotecnológico, que se inicia em pequena escala, chegando a atividades industriais. Esse bioprocesso vem continuamente sendo expandido de forma global, motivado pela inclusão na gastronomia, em função da potencialidade nutricional, pelas propriedades medicinais e outros (FONSECA *et al*., 2015; SOUZA *et al*., 2016; MACHADO *et al*., 2017).

Quadro 3 - Trabalhos do Grupo de Pesquisa sobre P. albidus 1692 e P. ostreatoroseus, 1720

Espécies	Resultados com aplicação industrial	Fonte
Pleurotus albidus	Barras de cereais utilizando a biomassa desidratada	Kirsh (2013)
P. ostreatoroseus	Enzimas influenciadas por mecanismos regulatórios físicos e químicos. São eficazes na remoção de manchas em roupas. Demostrou ser compatível com detergentes comerciais	Silva (2015)
P. ostreatoroseus	Processo, usando como substrato casca de cupuaçu, produziu Corpo frutífero (*in natura*) de boa aparência, textura e sabor	Fonseca *et al*., (2015)
P. albidus	Produção de biomassa micelial, usada como aditivo, em alimentos para o consumo humano e para a extração de compostos bioativos, antimicrobianos, antioxidantes, polissacarídeos e outros	Kirsch *et al*., (2016)
P. albidus	Bioproduto com uso da casca de abacaxi e biomassa de *P. albidus* de valor nutricional para a indústria de panificação	Souza *et al*., (2016)
P. ostreatoroseus	Bioproduto formulado com tubérculos amazônico (D alata), para o enriquecimento de massas alimentícias do tipo capeletti, com proteínas, fibras e minerais, representando uma inovação na indústria de alimentos	Machado (2017)
P. albidus	Enzima de coagulação do leite, usada para a fabricação de queijos	Martim *et al*., (2017) Teixeira e Martim (2017)
P. ostreatoroseus	Identificou significativos valores de atividade proteolítica e presença dominante de proteases de cisteína	Machado *et al*., (2017)
P. albidus	Avaliar a produção e as propriedades nutricionais de P. albidus para valorizar produto de panificação - massa alimentícia	Figueiredo (2017)
P. ostreatoroseus	Produção de inóculo, corpo de frutificação (*in natura*) em Resíduo de açaí. E pão adicionado com farinha do basidioma.	Barbosa e Teixeira (2018)
P. albidus	Enzimas do tipo peptidases (proteases) tiveram atividade ótima quando cultivadas em exocarpo de cupuaçu com aplicação na indústria de alimentos	Pimenta *et al*., (2020)
P. ostreatoroseus	Produção e caracterização de enzimas, proteases. O processo usou resíduos de açaí potencial para uso na indústria farmacêutica, têxtil, alimentícia e química	Barbosa, E. *et al*. (2020)
P. ostreatoroseus	Produção de massa micelial em tubérculo amazônico *Dioscorea altíssima* e produção de amilases, celulases e proteases	Coelho *et al*., (2021)

Fonte: autor.

4.4 CONCLUSÃO

O conhecimento científico com as espécies *P. ostreatoroseus* e *P. albidus* são mais consequentes, a partir do século XXI. Esses estudos comprovam perspectiva promissora como produto alimentício, sendo fresco ou desidratado e, também, para insumos em produtos alimentícios. Além desses feitos, outras substâncias extraídas das espécies geram compostos bioativos que os valorizam com formulações, para diversas ações terapêuticas, como na prevenção de comorbidades.

Pleurotus spp. em alguns estudos demarcaram espécies como inconsistentes, mas estudos moleculares estão conseguindo desvendar. Quanto às espécies do bioma Amazônico, *P. albidus* já tem o status taxonômico resolvido. E em *P. ostreatoroseus*, recentemente, seu genoma foi sequenciado, significando evolução dos mecanismos moleculares.

P. ostreatoroseus e *P. albidus* são comprovadamente organismos de interesse biotecnológico. Apresentam, distintamente, estruturas de polissacarídeos, ácidos fenólicos, ácidos orgânicos e tocoferóis. A descrição dessas estruturas permite avançar no desenvolvimento de vários produtos para a aplicação nas indústrias químicas e farmacêuticos, indústrias alimentícias da área de laticínios e bebidas.

REFERÊNCIAS

ABDEL-RAHMAN, *et al*. Purification and characterization of Milk -Clotting Enzyme from the edible mushroom *Pleurotus* albidus. **Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences**, v.9, n.5, p.49-63, 2018.

ABREU, J.A.S.; ROVIDA, A.F.S.; PAMPHILE, J.A. Fungos de Interesse: Aplicações Biotecnológicas. Universidade Estadual de Maringá - UEM. **Revista UNINGÁ Review**, v. 21, n.1, p.55-59, 2015.

AISHAH, M. S.; ROSLI, W. Effect of Different Drying Techniques on the Nutritional Values of Oyster Mushroom (*Pleurotus* sajor-caju). **Sains Malaysiana**, v. 42, n. 7, p. 937-941, 2013.

ALBUQUERQUE, M.P; PEIL, R.M.N; NASCIMENTO, J.S. Capacidade de colonização micelial de *Pleurotus ostreatoroseus*, *pleurotus pulmonarius* e *lentinus sajorcaju* em diferentes substratos. **Caderno de Pesquisa, série Biologia**, v.24, n.2, 2012.

AO, T.; DEB, C. R. KHRUOMO, N. Diversity of Wild Mushrooms in Nagaland, India. **Open Journal of Forestry**, 2016, 6, 404-419.

ARANDA, A. T. Coleções Biológicas: Conceitos básicos, curadoria e gestão, interface com a biodiversidade e saúde pública. In: SIMPÓSIO SOBRE A BIODIVERSIDADE DA MATA ATLÂNTICA, 3.,2014, Rio de janeiro, **Anais [...]**, Rio de janeiro: Fiocruz, 2014. p. 45-56. 2014.

AZEVEDO, E.; BARATA, M. Diversidade no reino Fungi e aplicações à Indústria. **Revista de Ciência Elementar**, v. 6, n. 4, 2018.

BACH, F.; HELM, C. V.; BELLETTINI, M. B.; MACIEL, G. M.; HAMINIUK, C. W. I. Edible mushrooms: a potential source of essential amino acids, glucans and minerals. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 52, p. 2382-2392, 2017.

BAO, D. *et al*. Phylogenetic analysis of oyster mushrooms (*Pleurotus* spp.) based on restriction fragment length polymorphisms of the 5 portion of 26S rDNA. **Journal Wood Science**, v. 50, p. 169-176, 2004.

BARBOSA, E. E. P. e TEIXEIRA, M. F. S. Padronização *in vitro* das condições de cultivo de *Pleurotus ostreatoroseus* para incorporação da biomassa em produto de panificação. In: CONGRESSO DE INICIAÇÃO TECNOLOGICA E INOVAÇÃO. 1, 2018. Manaus: PROTEC/UFAM, 2018. (Banner)

BARBOSA, E. E. P. *et al*. Cultivo de cogumelo comestível em resíduos lignocelulósicos de floresta tropical para produção de proteases. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, p. 92475-92485, 2020.

BARBOSA, J. R. *et al*. Polysaccharides of mushroom *Pleurotus* spp.: New extraction techniques, biological activities and development of new technologies. **Carbohydrate Polymers**, v.229, fev., 2020.

BELLETTINI, M. B. *et al*. Factors affecting mushroom *Pleurotus* spp. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v.26, n.4, p.633-646, 2019.

BERNARDI, E.; DONINI, L. P.; MINOTTO, E.; NASCIMENTO, J. S. Cultivation of Three *Pleurotus* (Jacq.: Fr.) P. Kumm.Species on Pasteurized Elephant Grass (Pennisetum purpureum) Substrate, **International Journal of Medicinal Mushrooms**, v. 9, p. 373-378, 2007.

BERNARDI, E.; DONINI, L. P.; MINOTTO. E.; NASCIMENTO, J. S. Utilização de diferentes substratos para a produção de inóculo de *Pleurotus ostreatoroseus* Sing. **Revista Ciência Agronômica**, v.38, n.1, p.84-89, 2007a.

BERNARDI, E.; MINOTTO, E.; NASCIMENTO, J.S. Evaluation of growth and production of *Pleurotus* sp. in sterilized substrates. **Arquivos Instituto Biológico**., São Paulo, v.80, n.3, p. 318-324, 2013.

BERNARDI, E.; VOLCÃO, L. M.; 2, SANTOS, L. M.; NASCIMENTO, J. S. Cultivation of *Pleurotus* Mushroomsin Axenic Culture through the Use of Crop Residues. IOSR **Journal of Agriculture and Veterinary Science (IOSR-JAVS)**, v.2, n.12, p. 66-70, 2018.

BONONI, V. L. R.; GIMENEZ, L. J. e ROJAS, A. C. B. Produção de cogumelos e biotecnologia. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE COGUMELOS NO BRASIL. 8., 2015. Sorocaba, **Anais [...]**. Sorocaba/SP: SICG, 2015. p. 96-109.

BRUGNARI, T. *et al*. Effects of Cooking and In Vitro Digestion on Antioxidant Properties and Cytotoxicity of the Culinary-Medicinal Mushroom *Pleurotus ostreatoroseus* (Agaricomycetes). **International Journal of Medicinal Mushrooms**, v. 20, n. 3, p. 259-270, 2018.

CAMASSOLA, M. et al. **Uso de extrato de *pleurotus* sp., *schizophyllum* sp. ou combinação dos extratos, processo de cultivo de macrofungos e processo de obtenção de extrato de macrofungo para redução dos danos oxidativos em diabéticos**. Depositante: Fundação Universidade de Caxias do Sul. BR 102018003183-0 A2. Publicada em 10 setembro 2019.

CAMPOS JUNIOR, F. A. S. *et al*. Multivariate optimization of extraction and validation of phenolic acids in edible mushrooms by capillary electrophoresis. **Food Research International**, v. 126, 2019.

CANTELE, C. *et al*. Production, characterization and dye decolorization ability of a high level laccase from Marasmiellus palmivorus. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v.12, p.15-22, 2017.

CARBONERO, E. R. *et al*. A b-glucan from the fruit bodies of edible mushrooms *Pleurotus* eryngii and *Pleurotus ostreatoroseus*. **Carbohydrate Polymers**, v. 66, p. 252- 257, 2006.

CARBONERO, E. R. *et al*. Unusual partially 3-O-methylated a-galactan from mushrooms of the genus *Pleurotus*. **Phytochemistry**, v. 69, p. 252-257, 2008.

CARRASCO-GONZÁLEZ, J. A.; SERNA-SALDÍVAR, O.; GUTIÉRREZ-URIBE, J. A. Nutritional composition and nutraceutical properties of the *Pleurotus* fruiting bodies: Potential use as food ingredient. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 58, p. 69-81, 2017.

CASTRO-ALVES, V. C. *et al*. Characterization and immunomodulatory effects of glucans from *Pleurotus* albidus, a promising species of mushroom for farming and biomass production. **International Journal of Biological Macromolecules**, v.95, p.215-223, 2017.

CASTRO-ALVES, V. C. e NASCIMENTO, J. R. O. α- and β-D-Glucans from the edible mushroom *Pleurotus* albidus differentially regulate lipid-induced inflammation and foam cell formation in human macrophage-like THP-1 cell. **International Journal of Biological Macromolecules**, v.111, p. 1222-1228, 2018.

CHANG, S.T.; WASSER, S.P. The Cultivation and Environmental Impact of Mushrooms. **Oxford Research Encyclopedia /Environmental Science**, mar 2017.

CHIOZA, A; OHGA, S. Cultivated Mushrooms in Malawi: A look at the present situation. **Advances in Microbiology**, Fukuoka/Japan, n. 4, p. 6-11, 2014.

COELHO, M. P. S. L. V. *et al*. Alternativa de fontes nutricionais para desenvolvimento da fase micelial e produção de hidrolases por cogumelo comestível de floresta tropical. **Brazilian Journal of Development**, Curitiba, v.7, n.3, p. 22890-22907 mar. 2021.

CORRÊA, R. C. G. *et al*. Bioactive formulations prepared from fruiting bodies and submerged culture mycelia of the Brazilian edible mushroom *Pleurotus* ostreatoroseus singer. **Food & Function**, v. 6, p. 2155-2164, 2015.

CORRÊA, R. C. G. *et al*. Biotechnological, nutritional and therapeutic uses of *Pleurotu*s spp. (Oyster mushroom) related with its chemical composition: A review on the past decade findings. **Trends in Food Science & Technology**, n. 50, p.103-117, 2016.

DUARTE, T. M. S. **Projeto de Implementação de uma empresa de Produção de Cogumelos "Shiitake Imperium Lda**". 2020.108 f. Dissertação (Mestrado em Gestão e Estratégia Empresarial) -Universidade Europeia, International Universities. Lisboa, jul. 2020.

EL SHEIKHA, AF; HU, D.-M. Como rastrear a origem geográfica dos cogumelos? **Trends in Food Science & Technology**, 78, p. 292-303, 2018.

EL-ZAHER, E. H. F. A. *et al*. ptimization and characterization of endopolysaccharides from *pleurotus* eryngii and its possible application. **Delta Journal Of Science**, v. 42, n. 2, p. 74-81, 2020.

FALCÃO, M. S.; LUCINI, F.; CONRAD, B. C.; OLIVEIRA, N.; PUTZKE, J. Crescimento micelial de *pleurotus* ostreatoroseus singer (basidiomycota) em diferentes meios de cultivo utilizando resíduos orgânicos. In: SALÃO INTERNACIONAL DE ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO, 9. 2017. [**Anais**...] Santana do Livramento/RS: SIEPE, 2017.

FIGUEIREDO, A. S. **Caracterização nutricional e desenvolvimento de produto alimentício adicionado de *Pleurotus albidus***. 2017. Tese (Doutorado em Biotecnologia) - Universidade Federal do Amazonas, Manaus: PPGBiotec/UFAM, 2017 (Resumo)

FONSECA, T.R.B. ***Pleurotus ostreatoroseus* DPUA 1720: Avaliação do crescimento, produção de basidioma e determinação da atividade proteolítica em resíduos agroindustriais**. 2013. 77 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) Universidade Federal do Amazonas, Manaus, UFAM, 2013.

FONSECA, T. R. B; BARRONCAS, J. F.; TEIXEIRA, M. F. S. Produção em matriz solida e caracterização parcial das proteases de cogumelo comestível da floresta amazônica. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**. Ponta Grossa/PR: UTFPR, v.8, n.1, p.1227-1236, 2014.

FONSECA, T. R. B. *et al*. Cultivation and nutritional studies of edible mushroom from North Brazil. **African Journal of Microbiology Research**, v. 9, n. 30, p.1814-1822, 2015.

GALLOTTI, F. e LAVELLI, V. The Effect of UV Irradiation on Vitamin D2 Content and Antioxidant and Antiglycation Activities of Mushrooms. **Foods**, v.9, 2020.

GAMBATO, G. *et al*. Evaluation of productivity and antioxidant profile of solid-state cultivated macrofungi *Pleurotus* albidus and Pycnoporus sanguineus. **Bioresource Technology**, n. 207 p. 46-51, 2016.

GAMBATO, G. *et al*. *Pleurotus albidus* Modulates Mitochondrial Metabolism Disrupted by Hyperglycaemia in EA. hy926 Endothelial Cells. **Hindawi BioMed Research International**, v. 2018.

GARGANO, M. L. *et al*. Medicinal mushrooms: Valuable biological resources of high exploitation potential. **Plant Biosystems - An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology**, v. 151, n.3, p.548-565, 2017.

GERN, R. M. M. *et al*. Alternative medium for production of *Pleurotus ostreatus* biomass and potential antitumor polysaccharides. **Bioresource Technology**, v. 99 p. 76-82, 2008.

GLOBAL Biodiversity Information Facility - GBIF, 2020. [Ocorrências da espécie P. albidus]. Disponível em: https://www.gbif.org/search?q=pleurotus%20albidus

GOLAK-SIWULSKA, I. *et al*. Bioactive compounds and medicinal properties of Oyster mushrooms (*Pleurotus* sp.). **Folia Horticulturae**, v. 30, n. 2, p. 191-201, 2018.

GOMES, M. Agronegócio: Consumo e produção de cogumelos crescem no Brasil. **Correio Braziliense**, postado em 29/01/2018.

GONÇALVES, A. S. A; CASALVARA, R. F. A. **Potencial aplicação de β- GLUCANOS de *Pleurotus ostreatoroseus* por meio de nanopartículas: uma revisão da literatura**. 34 f. 2020. Artigo (Graduação em Biomedicina) Unicesumar - Universidade Cesumar: Maringá, 2020.

GRACHER, A. H. P.; CIPRIANI, T. R.; CARBONERO, E. R.; GORIN, P. A. J.; IACOMINI, M. Antithrombin and heparin cofactor II-mediated inactivation of α-thrombin by a synthetic, sulfated mannogalactan. **Thrombosis Research**, v. 126, p. 180-187, 2010.

GRIMM, D.; WÖSTEN, H. A. B. Mushroom cultivation in the circular economy. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 102, n.18, p.7795-7803, 2018.

HALUEENDO, L. K. M. E. Cultivation of Oyster Mushrooms (*Pleurotus* species). In: **SUSTAINABLE LIVELIHOODS IN THE GREEN ECONOMY**. Karelia University of applied sciences: Joensuu/Finland, p.31-39, [2016]. (Chapter 1. Greening the Rural Economy)

HAWKSWORTH D.L.; LÜCKING R. Fungal diversity revisited: 2.2 to 3.8 million species. **Microbiology Spectrum**, v.5, n.4, P. 1-18, 25 ago. 2017.

INÁCIO, F. D. *et al*. Proteases of Wood Rot Fungi with Emphasis on the Genus *Pleurotus*, **BioMed Research International**, 2015.

IOSSI, M. R. *et al*. *Pleurotus* spp. cultivation on Brachiaria sp. straw treatment with alkaline water. **Brazilian Journal Microbiology**, v. 49, p. 64-67, nov. 2018.

JARAMILLO DE ECHEVERRI, C. et al. **Functional food and process for producing same**. Depositante: REISHI COLOMBIA S.A.S. WO 2019/149292 A1. Publicada em 08 agosto 2019.

JIN, Z. *et al*. Yield, Nutritional Content, and Antioxidant Activity of *Pleurotus ostreatus* on Corncobs Supplemented with Herb Residues. **Mycobiology**, v.46, n. 1, p. 24-32, 2018.

KAPAHI, M. e SACHDEVA, S. Mycoremediation potential of *Pleurotus* species for heavy metals: a review. **Bioresource Bioprocess**, v.4, n.32, 2017.

KIRSCH, L. S.; EBIMUNA, V. C. S.; TEIXEIRA, M. F. S. Mycelial Biomass and Biochemical Proprerties of Proteases Produced by Lentinus citrinus DPUA 1535 (Higher Basidiomycetes) in Submerged Cultivation. **International Journal of Medicinal Mushrooms**, [S. L.], v.5, n.15, p.505-515, 2013.

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

KUMANAYA, D. R. G.; RUGAI, T. D. A. S.; BONINI, L. M. A cultura e a territorialidade do cultivo de cogumelos em Mogi das Cruzes. **Revista Eletrônica Anima Terra**, Mogi das Cruzes/SP, n. 7, p.1-13, 2018.

LAVELLI, V. *et al*. Circular reuse of bio-resources: the role of *Pleurotus* spp. in the development of functional foods. **Food Function**, v.3, 2018.

LECHNER, B. E.; WRIGHT, J. E. e ALBERTÓ, E. The Genus *Pleurotus* in Argentina. **Mycologia**, v. 96, n. 4, p. 845-858, 2004.

LECHNER, B. E. e ALBERTÓ, E. Search for new naturally occurring strains of *Pleurotus* to improve yields. *Pleurotus albidus* as a novel proposed species for mushroom production. **Revista Iberoamericana de Micología**, v.28, n.4, p. 148-154, 2011.

MACHADO, A.R.G. **Desenvolvimento de produto alimentício inovador a base de cogumelo e tubérculos tropicais**. 2017. 88 f. se (Doutorado em Biodiversidade e Biotecnologia da Amazônia Legal) - Universidade Federal do Amazonas, 2017.

MACHADO, A. R. G.; MARTIM, S. R.; ALECRIM, M. M.; TEIXEIRA, M. F. S. Production and characterization of proteases from edible mushrooms cultivated on amazonic tubers. **African Journal of Biotechnology**, v. 16, n. 46, p. 2160-2166, 15 nov. 2017.

MAGALHÃES, A. C.; MOREIRA, B. R. A.; ZIED, D. C. Cultivo axênico de *Pleurotus* ostreatus var. Flórida em briquetes de bagaço suplementados de cana-de-açúcar. **Engenharia Agrícola**. Jaboticabal, v. 38, n. 6, p. 835-843, 2018.

MARTIM, S. R. *et al*. Proteases ácidas de cogumelo comestível da Amazônia para aplicabilidade industrial. **Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi. Ciências Naturais**, Belém, v. 12, n. 3, p. 353-362, set.- dez. 2017.

MELO, M. B.; TELES, A. C. A.; SANTOS JUNIOR, W. P. Contribuição ao estudo de componentes químicos e princípios ativos de cogumelos medicinais. **Ciências Biológicas e de Saúde UNIT,** Aracaju, v. 6, n. 1, p. 23-42, mar. 2020.

MENOLLI JR, N.; BRETERNITZ, B. S.; CAPELARI, M. The genus *Pleurotus* in Brazil: a molecular and taxonomic overview. **Mycoscience**, v. 55, p. 378-389, 2014.

MINGYI, Y. *et al*. Trends of utilizing mushroom polysaccharides (MPs) as potent nutraceutical components in food and medicine: A comprehensive review. **Trends in Food Science & Technology**, v.92, p.94-110, 2019.

MORAES, J. C. F. B.; ROLIM, L. N.; SALES-CAMPOS, C. Avaliação produtiva de cogumelos comestíveis desenvolvidos pela técnica Jun-Cao. In: **Diversidade Microbiana da Amazônia**, 2015. Manaus: Editora INPA, 2015.

NILSSON, R. H. *et al*. Mycobiome diversity: high-throughput sequencing and identification of fungi. **Nature Reviews: Microbiology**, v. 17, fev. 2019.

OLIVEIRA, C. C. **Produção de cogumelos comestíveis utilizando resíduos agroindustriais**. Trabalho de Diplomação (Engenharia Química) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, novembro de 2018.

OLIVEIRA, A.P.; NAOZUKA, J. Preliminary results on the feasibility of producing selenium-enriched pink *(Pleurotus djamor*) and white (*Pleurotus ostreatus*) oyster mushrooms: Bioaccumulation, bioaccessibility, and Se-proteins distribution. **Microchemical Journal**, v. 145, p.1143-1150, 2019.

OLUWAFEMI, G. I.; SEIDU, K. T.; FAGBEMI, T. N. Chemical composition, functional properties and protein fractionation of edible oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*). Annals. Food Science and Technology, 2016.

PATAR, U. R.; CHANDRA, R.; DHAKAD, P. K. Comparative Study on Growth Parameters and Yield Potential of Two Species of *Pleurotus* Mushroom (*Pleurotus florida* and *Pleurotus sajor-caju*). **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**, v. 7, n. 3, p. 3066-3071, 2018.

PAZZA, A. C. V. *et al*. Composição nutricional e propriedades funcionais fisiológicas de cogumelos comestíveis: agaricus brasiliensis e *Pleurotus* ostreatus. **FAG Journal of Health**, v.1, n.3, p. 240, 2019.

PEREIRA, A. B. e PUTZKE, J. **Famílias e gêneros de fungos Agaricales (Cogumelos) no Rio Grande do Sul**. Santa Cruz do Sul, Editora FISC, 1989.

PICORNELL-BUENDÍA, R.; PARDO-GIMÉNEZ, A.; JUAN-VALERO, J. A. Agronomic assessment of spent substrates for mushroom cultivation. Biotechnol. **Agron. Soc. Environ**, v.20, n.3, p. 363-374. 2016.

PIMENTA, L. *et al*. Processo eco-amigável para selecionar substrato lignocelulósico para produção de peptidases ácidas / eco-friendly process to select lignocellulosic substrate for the production of acid peptidases. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, p. 3469-3479, 2021.

PRESCOTT, T. *et al*. Useful fungi. In: Willis, K. J. (Ed.), **State of the World's fungi 2018**, report. Kew: Royal Botanic Gardens, 2018. p. 24-31.

PUTZKE, J. Os gêneros *pleurotus* e lentinus (agaricales, basidiomycota, fungos) no Brasil - I: lista de espécies e chaves de identificação. **Caderno de Pesquisa série Biologia**, v. 14, n.1, p. 67-75, 2002.

PUTZKE, J.; PUTZKE, M. T. L. **Cogumelos (Fungos Agaricales) no Brasil**. São Gabriel/RS, v.1., 2017.

PUTZKE, J.; PUTZKE, M. T. L. **Cogumelos no Brasil (Fungos Agaricales)**, v.2, 2019.

PUTZKE, J. *et al*. Nova técnica de cultivo de cogumelos (*Pleurotus* spp.) utilizando recipientes de colmos de bambu para a pequena propriedade rural. **Agricultura Familiar: Pesquisa, Formação e Desenvolvimento**. Belém, v. 13, n, 1, p. 103-111, jan-jun 2019.

RABUSKE, E. R. *et al*. Substratos alternativos para o cultivo do cogumelo comestível ostra salmão: *Pleurotus djamor*. **Caderno de Pesquisa**. Santa Cruz do Sul, v. 31, n. 2, p. 22-24, mai./ago. 2019.

RAMPINELLI, J. R. *et al*. Valor nutricional de *Pleurotus djamor* cultivado em palha de bananeira. **Alimentação e Nutrição**-Araraquara, v. 21, n. 2, p. 197-202, abr./jun. 2010.

REIS, M. F. *et al*. 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, maio/ago. 2010.

REIS e ROCHA. Efeito de extratos aquosos dos cogumelos Lentinula edodes E *Pleurotus ostreatoroseus* sobre o desenvolvimento vegetativo de *Aspergillus nidulans*. **SaBios: Revista Saúde e Biologia**, v.11, n.2, p.42-52, mai./ago., 2016.

RESEARCH and Markets. Global edible mushrooms market: industry trends, opportunities and forecasts to 2023. Report. Dublin. 2017. Retrieved from https://www.researchandmarkets.com/reports/4451952/global-edible-mushrooms-market-industry-trend

RONCERO-RAMOS, I. e DELGADO-ANDRADE, C. The beneficial role of edible mushrooms in human health. **Current Opinion in Food Science**, v.14, p. 122-128, 2017.

ROSADO, F. R.; KEMMELMEIER, C.; COSTA, S. M. G. Alternative method of inoculum and spawn production for the cultivation of the edible Brazilian mushroom *Pleurotus ostreatoroseus* SING. **Journal Basic Microbiology**, v. 42, n.1, p.37-44, 2002.

ROSADO, F. R. *et al*. The presence of partially 3-O-methylated mannogalactan from the fruit bodies of edible basidiomycetes *Pleurotus ostreatus* 'Florida' Berk. and *Pleurotus ostreatoroseus* Sing. **FEMS Microbiology Letters**, v. 221, p. 119-124, 2003.

ROSADO, F. R. *et al*. Biomass and exopolysaccharide production in submerged cultures of *Pleurotus ostreatoroseus* SING. and *Pleurotus ostreatus* "florida" (Jack.: Fr.) Kummer. **Journal Basic Microbiology**, v. 43, n. 3, p. 230-375, 2003.

ROYSE, D. A global perspective on the high five: *Agaricus*, *Pleurotus*, *Lentinula*, *Auricularia* & *Flammulina*. In: PROCEEDINGS OF THE 8TH INTERNATIONAL CONFERENCE ON MUSHROOM BIOLOGY AND MUSHROOM PRODUCTS (ICMBMP8), 8, 2014. 8. [**Anais...]** New Delhi, India, 19-22 nov., 2014.

ROYSE, D.J.; BAARS, J.; TAN, Q. Current overview of mushroom production in the world. **Edible and medicinal muhrooms: technology and applications**. Wiley Blackwell, 2017.

SCARIOT, M. R.; RAK, L.; GOMES DA COSTA, S. M. e CLEMENTE, E. Composição química de cogumelos comestíveis cultivados em resíduo de algodão (Gossypium hirsutum L.). **Acta Scientiarum**, v. 22, n. 2 p. 317-320, 2000.

SALES-CAMPOS, C. **Aproveitamento de resíduos madeireiros e da agroindústria regional para o cultivo de fungos comestíveis de ocorrência na região Amazônica**. Tese (Doutorado em Biotecnologia) -- Universidade Federal do Amazonas. Manaus: UFAM, 2008.

SÁNCHEZ, C. Cultivation of *Pleurotus ostreatus* and other edible mushrooms. **Applied Microbiology Biotechnology**, v.85, p. 1321 -1337, 2010.

SEKAN, A. S. *et al*. Green potential of *Pleurotus* spp. in biotechnology, **PeerJ**, v.7, 2019.

SILVA, C.J.A.; MALTA, D.J.N. A importância dos fungos na biotecnologia. **Cadernos de Graduação/ Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 2, n. 3, p. 49-66, 2016.

SILVA, L.S.C. **Produção de proteases neutras de cogumelos para aplicação na indústria de detergente**. Dissertação (Mestrado em Diversidade Biológica) Universidade Federal do Amazonas. Manaus: PPGDB/ICB, 2015.

SILVA, S. D. *et al*. Draft Genome Sequence of the Wild Edible Mushroom *Pleurotus ostreatoroseus* DPUA 1720. **Microbiology Resource Announcements**, [S.L.], v. 10, n. 4, p. 84020-84022, 28 jan. 2021. American Society for Microbiology. http://dx.doi.org/10.1128/mra.00840-20.

SOCCOL, C. R.; PANDEY, A.; LARROCHE, C. **Fermentation process engineering in the food industry**. 1. Ed CRC Press, 2013, 510p.

SOUSA, M. R. Q.; NASCIMENTO, S. C.; CORREIA, M. J. Evaluation of Antitumoral Activity of a Fraction of Water-Soluble Components of the Edible Mushroom *Pleurotus ostreato-roseus*. **Acta Farm. Bonaerense**, v. 23, n.2, p. 165-8, 2004.

SOUZA, R. A. T.; FONSECA, T. R. B.; KIRSCH, L. S.; SILVA, L. S. C.; ALECRIM, M. M.; CRUZ FILHO, R. F.; TEIXEIRA, M. F. S. Nutritional composition of bioproducts generated from semi-solid fermentation of pineapple peel by edible mushrooms. **African Journal of Biotechnology**, v.15, n. 12, p. 451-457, 23 mar, 2016.

STOFFEL, F. *et al*. Chemical features and bioactivity of grain flours colonized by macrofungi as a strategy for nutritional enrichment. **Food chemistry**, v. 297, 2019.

STOFFEL, F. *et al*. Production of edible mycoprotein using agroindustrial wastes: Influence on nutritional, chemical and biological properties. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 58, 2019.

SÜFER, Ö.; BOZOK, F.; DEMIR, H. Usage of Edible Mushrooms in Various Food Products. **Turkish Journal of Agriculture - Food Science and Technology**, v. 4, n.3, p. 144-149, 2016.

TAVARES, A. C. D. **Cultivo do cogumelo comestível *Pleurotus ostreatus* INPA 1467: Produção, composição centesimal e mineral**. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) - Universidade Federal do Amazonas. Manaus: UFAM, 2015.

TEIXEIRA, M. F. S. *et al*. Herbário micológico: patrimônio de cogumelos da Amazônia. In: REUNIÃO ANUAL DA SBPC, 62. **[Anais...]** Manaus: UFAM, 12 a 17 de jul., 2009.

TEIXEIRA, M. F. S.; MARTIM, S. R. **Produção e extração de coagulante do leite bovino utilizando o cogumelo *Pleurotus albidus***. Depositante: Fundação Universidade do Amazonas. BR 102017014672-3 A2. Depósito: 06 jul. 2017.

TEIXEIRA, P. C. *et al*. Padronização e melhoria de processos produtivos em empresas de panificação: estudo de múltiplos casos. **Production**, v. 24, n. 2, p. 311-321, abr./jun. 2014.

TÉLLEZ-TÉLLEZ, M.; DÍAZ-GODÍNEZ, G. Omic Tools to Study Enzyme Production from Fungi in the *Pleurotus* genus. **BioResources**, v. 14, n.1, p. 2420-2457, 2019.

URBEN, A. F. (ed.). **Produção de cogumelos por meio de tecnologia chinesa modificada: biotecnologia e aplicações na agricultura e na saúde**. 3. ed. Brasília: Embrapa, 2017. 274 p.

VALVERDE, M. E.; HERNÁNDEZ-PÉREZ, T.; PAREDES-LÓPEZ, O. Edible Mushrooms: Improving Human Health and Promoting Quality Life. **Journal of Microbiology** 2015.

WANG, W. Research and Analysis on Agricultural Logistics of Sulfites —Taking an Example of Mushroom. **American Journal Of Industrial And Business Management**, [S. L.], v. 6, n. 6, p. 790-793, 2016.

XU, J. Fungal DNA barcoding. **Genome**, [S. L.], v. 59, n. 11, p. 913-932, nov. 2016.

ZERVAKIS, G. I. *et al*. *Pleurotus opuntiae* revisited e An insight to the phylogeny of dimitic *Pleurotus* species with emphasis on the P. djamor complex. **Fungal Biology**, v. 123, p. 188-199, 2019.

5 CAPÍTULO II - ALTERNATIVA DE FONTES NUTRICIONAIS PARA O DESENVOLVIMENTO DA FASE MICELIAL E À PRODUÇÃO DE HIDROLASES POR COGUMELO COMESTÍVEL DE FLORESTA TROPICAL

Brazilian Journal of Development | 22890
ISSN: 2525-8761

Alternativa de fontes nutricionais para desenvolvimento da fase micelial e produção de hidrolases por cogumelo comestível de floresta tropical

Alternative of nutritional sources for the development of the mycellial phase and production of hydrolases by edible mushroom from tropical forest

DOI:10.34117/bjdv7n3-145

Recebimento dos originais: 08/02/2021
Aceitação para publicação: 01/03/2021

Maria do Perpétuo Socorro de Lima Verde Coelho
Mestre em Engenharia de Produção
Doutoranda da Rede de Biodiversidade e Biotecnologia da Amazônia Legal (REDE BIONORTE)
Instituição: Universidade Estadual do Amazonas-UEA,
Endereço: Av. Carvalho Leal, 1777, Bairro Cachoeirinha - 69065001, Manaus-AM
E-mail: lvcoelho1@gmail.com

Elliza Emily Perrone Barbosa
Graduada em Ciências Biológicas
Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia (PPGBIOTEC)
Instituição: Universidade Federal do Amazonas-UFAM
Endereço: Av. Gen. Rodrigo Octávio 6200 (Bairro Coroado I) 69080-900, Manaus-AM
E-mail: elliza.perrone01@gmail.com

Laynah Pimenta
Graduada em Ciências Biológicas
Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia (PPGBIOTEC)
Instituição: Universidade Federal do Amazonas-UFAM
Endereço:Av. Gen. Rodrigo Octávio 6200 (Bairro Coroado I) 69080-900, Manaus-AM
E-mail: laynahpimenta7@gmail.com

Samara Claudia Picanço Batista
Graduada em Engenharia de Alimentos
Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia (PPGBIOTEC)
Instituição: Universidade Federal do Amazonas-UFAM
Endereço: Av. Gen. Rodrigo Octávio 6200 (Bairro Coroado I) 69080-900, Manaus-AM
E-mail: samara.claudia18@gmail.com

Fabiano Brito Prado
Mestre em Biotecnologia

RESUMO

Cogumelos do gênero *Pleurotus* são reconhecidos como alimentos de alto valor nutricional e por sintetizarem enzimas hidrolíticas com ampla aplicação industrial. Essas características incentivam a busca por meios de cultivo que estimulem a produção de biomassa e hidrolases por espécies de *Pleurotus*. O objetivo deste estudo foi selecionar meios de cultivo, para o desenvolvimento da cultura matriz de *P. ostreatoroseus* DPUA 1720, avaliar o potencial biotecnológico dos cogumelos como fonte de hidrolases e caracterizar as proteases sintetizadas por esse cogumelo comestível. A cultura matriz de *P. ostreatoroseus* foi mantida em BDA+YE [(Ágar Batata Dextrose (BDA) + Extrato de Levedura (YE)], a 25 °C por 8 dias. Para avaliar a velocidade do crescimento radial e o vigor micelial, *P. ostreatoroseus* foi subcultivado em BDA+YE, SAB+YE (Ágar Sabouraud + Extrato de Levedura), GYP (Glicose + Peptona), MGYP (Ágar Extrato de Malte + Glicose + Peptona), CEINYE (Cará-de-espinho *in natura* + Extrato de Levedura) e CEDYE (Cará-de-espinho desidratado + Extrato de Levedura). A avaliação da síntese de amilase, celulase e protease foi realizada em meio sólido utilizando a técnica do bloco de gelose. A influência do meio de cultivo e do tempo de fermentação, na produção de proteases, foram realizadas em meio líquido. A atividade proteolítica foi determinada em solução de azocaseína 1% (p/v). As proteases obtidas no meio com atividade significativa foram caracterização quanto ao pH e temperatura ótimos. Em BDAYE, *P. ostreatoroseus* apresentou rápido crescimento micelial (17,80 mm/dia), em cinco dias de cultivo, além de textura cotonosa. Entretanto os resultados demonstraram que SABYE e CEINYE são meios promissores para o crescimento desse cogumelo. *Pleurotus ostreatoroseus* sintetizou quantitativo superior de amilase (17,53 mm), protease (14,33 mm) e celulase (13,61 mm) em CEINYE, BDAYE, GYP, respectivamente. Em meio líquido, valores significativos de atividade proteolítica foram determinados em CEINYE (25,87 U/mL) e BDAYE (22,00 U/mL), aos quatro dias de bioprocesso. As proteases de *P. ostreatoroseus* cultivado em CEINYE apresentaram atividade ótima em pH 5 a 50 °C. *Pleurotus ostreatoroseus* isolado na Amazônia cresce e excreta hidrolases em diferentes meios de cultivo e suas proteases possuem potencial, principalmente, para uso na indústria de alimentos.

Palavras-Chave: cogumelo comestível; *Pleurotus ostreatoroseus;* proteases.

ABSTRACT

Mushrooms of the genus *Pleurotus* are recognized as food of high nutritional value and for synthesizing hydrolytic enzymes with wide industrial application. These characteristics encourage the search for ways to stimulate the production of biomass and hydrolases. This study aimed to evaluate growth media, as well as the synthesis of hydrolases and the characterization of proteases produced by P. ostreatoroseus DPUA 1720. The stock culture was maintained on BDAYE (Potato Dextrose agar+Yeast Extract) at 25 °C for eight days. The radial growth and mycelial vigor were evaluated on six media supplemented with Yeast Extract (YE): BDAYE (Potato Dextrose agar), SABYE (Sabouraud agar), GYP (Glucose-Peptone agar), MGYP (Malt-Glucose-Peptone agar), CEINYE or CEDYE agar (*Dioscorea altissima* in natura or dehydrated). The evaluation of the amylase synthesis, cellulase and protease was carried out in a solid medium using the gelose block method. The influence of the medium and the cultivation time on the production of proteases was carried out by submerged fermentation. Proteolytic activity was determined in a 1% (w/v) azocasein solution. Proteases produced in the liquid medium with significant activity were characterized for the effect of pH and temperature on activity. *P. ostreatoroseus* showed rapid growth and cottony mycelium in BDAYE (17.80 mm/day) at five days of cultivation. However SABYE and CEINYE medium are more promising to grow this mushroom. The data of the enzymatic activity by agar diffusion showed higher activity of amylases (17.53 mm), followed by protease (14.33 mm) and cellulase (13.61 mm) in CEINYE, BDAYE, GYP, respectively. The significant values of activity of proteases produced by submerged fermentation were determined in CEINYE (25.87 U/mL) and BDAYE (22.00 U/mL) at four days of cultivation. The proteases from CEINYE cultures showed optimal activity at pH 5.0 and 50 °C. *Pleurotus ostreatoroseus* grows, synthesizes enzymes in both traditional and natural culture media, and its proteases have potential for application in food biotechnology.

Keywords: edible mushroom; *Pleurotus ostreatoroseus*, proteases.

5.1 INTRODUÇÃO

Os fungos do gênero *Pleurotus* pertencem ao Reino Fungi, Filo *Basidiomycota*, ordem *Agaricales* e popularmente são conhecidos como cogumelos ostra. Esses macrofungos são os principais decompositores de madeira e resíduos vegetais de regiões de clima tropical e subtropical (FONSECA *et al*., 2015; GRABARCZYK *et al*., 2019).

Espécies de *Pleurotus* vêm despertando interesse no cenário econômico, não só por causa do significativo valor nutricional, mas também por sintetizarem compostos bioativos com ação antimicrobiana, antioxidante, anticancerígeno, antiviral, anti-inflamatório, entre outros (BEHERA; GUPTA, 2015; BONONI; GIMENES; ROJAS, 2015). Como resultado da valorização econômica, a produção comercial mundial de *Pleurotus* sp. movimentou mais de US $ 60 bilhões no período de 2013 a 2018 (GRIMM; WÖSTEN, 2018; LAVELLI *et al*., 2018).

Pesquisas também vêm demonstrando o potencial de *Pleurotus* sp. como fonte de hidrolases de alto valor econômico, como amilases, celulases e proteases (ERGUN; UREK, 2017; ARAÚJO *et al*., 2021). Estas enzimas, que atuam na clivagem hidrolítica de ligações químicas, são utilizadas na elaboração de queijos, bebidas, pães, detergentes e no beneficiamento da celulose (SINGH *et al*., 2016). Em 2019, o mercado global de enzimas, incluindo hidrolases, foi avaliado em US $ 9,9 bilhões, com perspectiva de crescimento a uma taxa anual de 7,1% de 2020 a 2027 (ENZYMES, 2020).

Para aumentar a produção de biomassa e de enzimas hidrolíticas, além de reduzir os custos do bioprocesso, meios de cultivo alternativos formulados com resíduos do processamento do algodão, arroz, canola, milho, soja, entre outros, vêm sendo utilizados para o crescimento de espécies de *Pleurotus* (RITOTA e MANZI, 2019). Na Amazônia, exocarpos de cupuaçu e abacaxi, semente de açaí, serragem, farelos de trigo e arroz foram utilizados para a produção de basidiomas e enzimas hidrolíticas por *Pleurotus* sp. (FONSECA *et al*., 2015; SOUZA *et al*., 2016).

Pleurotus ostreatoroseus Sing., uma espécie que cresce naturalmente na Amazônia, possui basidioma carnoso com destacada coloração rósea e crescimento em temperaturas superiores a 20 °C (MENOLLI JUNIOR, *et al*., 2010; OMARINI *et al*., 2010). Apesar do potencial biotecnológico, *P. ostreatoroseus* nativo do bioma amazônico é pouco explorado como fonte de biomassa e enzimas hidrolíticas. Sendo assim, o objetivo deste estudo foi selecionar meios de cultivo, para o desenvolvimento de *P. ostreatoroseus* DPUA

1720, avaliar a produção de hidrolases e proceder à caracterização bioquímica das proteases sintetizadas por esse cogumelo comestível.

5.2 MATERIAL E MÉTODOS

5.2.1 Cogumelo

Nesta pesquisa foi utilizado *Pleurotus ostreatoroseus* DPUA 1720, cedido pela Coleção de Culturas DPUA, da Universidade Federal do Amazonas- UFAM. Essa espécie foi isolada na Área de Proteção Ambiental (APA/ UFAM), em Manaus, Amazonas, Brasil.

5.2.2 Manutenção da cultura matriz

Para a manutenção da cultura de *Pleurotus ostreatoroseus* DPUA 1720, foi cultivado Ágar Batata Dextrose com Extrato de Levedura 0,5% (p/v) (BDA+YE), em placas de Petri. A cultura foi incubada a 25 °C por oito dias para posterior uso nos demais experimentos (FONSECA *et al*., 2015).

5.2.3 Seleção de meios de cultura para o crescimento de *P. ostreatoroseus*

Neste experimento, foram analisados quatro meios de cultura definidos e dois complexos, adicionados de YE 0,5% (p/v): (1) Ágar Batata (BDA+YE), (2) Ágar Sabouraud (SAB+YE), (3) Ágar Glicose-Peptona (GYP) e (4) Ágar Extrato de Malte + Glicose (MGYP). Os meios complexos, Cará-de-espinho *in natura* (CEINYE) e Cará-de-espinho desidratado (CEDYE), foram formulados com a biomassa de Cará-de-Espinho (Dioscorea altíssima) e preparados, de acordo com as citações de Tudses (2016) com ajustes na formulação. Nos meios de cultura, o pH foi aferido para 6,0 e esterilizados a 121 °C por 15 minutos.

5.2.3.1 Determinação do crescimento micelial radial de *P. ostreatoroseus*

Para avaliar o desenvolvimento micelial das espécies de *P. ostreatoroseus*, em cada meio de cultivo (item 5.2.3), foi inoculado disco micelial de 8 mm de diâmetro. Os cultivos foram mantidos a 25 °C por oito dias, e a taxa de crescimento radial avaliada a cada 24 horas. Os experimentos foram realizados em triplicata e os resultados expressos em

milímetros por dia (CASTILLO *et al*., 2018). A velocidade de crescimento radial (VCR) foi avaliada de acordo com a Equação 1. A densidade da massa micelial foi classificada em: (1+) Muito escassa; (2+) Escassa; (3+) Moderada; (4+) Abundante; (5+) Muito abundante (MUTHU; SHANMUGASUNDARAM, 2015).

$$\text{Equação 1.}\quad VCR = \frac{\text{diâmetro da colônia (mm)}}{\text{tempo de cultivo (dia)}}$$

5.2.4 Ensaio enzimático

5.2.4.1 Avaliação da atividade de amilase, celulase e protease por *P. ostreatoroseus* em meio sólido

Na avaliação da síntese de enzimas hidrolíticas, foi utilizada a técnica do bloco de gelose. Fragmentos miceliais (8 mm de diâmetro) foram retirados das culturas de *P. ostreatoroseus* DPUA 1720 (item 5.2.3.1) e semeadas, em triplicata, na superfície de ágar carboximetilcelulose, ágar leite e ágar Amido. Após semeadura, as placas foram mantidas a 37 ºC por 18 horas (CHEN *et al*., 2003; KASANA *et al*., 2008). Para evidenciar a atividade de celulases, foram utilizadas soluções de vermelho do Congo (0,1%, p/v) e NaCl 1M, respectivamente. Na determinação da atividade amilolítica, foi usado vapor de iodo. Para a avaliação da presença de proteases, não foi necessário o uso de solução reveladora revelador, foi observada a formação de halo translúcido ao redor da colônia. Os halos de degradação foram medidos e os resultados expressos em milímetros (PALHETA *et al*., 2011).

5.2.4.2 Fermentação Submersa

5.2.4.2.1 Produção de proteases em meio líquido: influência do meio de cultivo e do tempo de fermentação

A cultura inóculo de *P. ostreatoroseus* foi preparada nos meios de cultura com base no forte vigor micelial e na produção significativa de proteases pelo método do bloco de gelose. De cada cultura foram retirados 10 discos miceliais, para a inoculação em frascos Erlenmeyer, contendo 50 mL de meio líquido formulado com os mesmos constituintes do meio sólido. Para investigar a influência do tempo de fermentação, na produção de enzimas

proteolíticas, *P. ostreatoroseus* foi cultivado, durante dois, quatro, seis e oito dias, em agitador orbital a 150 rpm, a 25 °C. Em seguida, a biomassa foi recuperada por filtração a vácuo, em papel de filtro Whatman n° 1, em membranas de éster de celulose (0,45 µm) e polietersulfonica (0,22 µm), respectivamente. No extrato bruto obtido foi determinada a atividade proteolítica quantitativa (MARTIM *et al*., 2017).

5.2.5 Determinação quantitativa da atividade de proteases

A atividade proteolítica foi determinada, conforme metodologia descrita por Machado *et al*. (2017), utilizando solução de azocaseína 1% (p/v) como substrato. Uma unidade de atividade de proteases foi definida como a quantidade de enzima necessária para produzir uma variação de absorbância igual a 0,01 em 60 minutos. O extrato com atividade significativa foi submetido à caracterização bioquímica.

5.2.6 Caracterização bioquímica das proteases

Nos ensaios de caracterização das proteases sintetizadas por *P. ostreatoroseus*, foram utilizadas as metodologias descritas por Martim *et al*. (2017). Para ensaio do pH ótimo, a atividade proteolítica foi determinada a 25 °C, utilizando as seguintes soluções-tampão 0,1 M: acetato de sódio (pH 5 e 6), Tris-HCl (pH 7 e 8) e glicina-NaOH (pH 9 e 10). A temperatura ótima foi determinada pela incubação do extrato bruto em temperaturas de 30 ºC a 80 °C. Todos os experimentos foram realizados em triplicata.

5.2.7 Análise estatística

Os dados obtidos nesse ensaio foram analisados em ANOVA, com teste de Tukey a 5 % de significância, utilizando o programa Minitab 18.0 (MINITAB, 2017).

5.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os dados referentes ao crescimento micelial radial de *P. ostreatoroseus* estão demonstrados na Tabela 1. A velocidade do crescimento significativo foi observada em BDAYE (17,80 mm/dia), SABYE (17,24 mm/dia), CEINYE (17,16 mm/dia), GYP (17,04 mm/dia), MGYP (16,96 mm/dia). Entre os meios de cultura, em BDAYE, foi observada

colonização total do meio em cinco dias. Nos demais meios, o desenvolvimento do micélio, em toda a superfície dos meios de cultura, foi registrado em oito dias. Sastre-Ahuatzi *et al*. (2007) determinaram crescimento de 7,8 mm/dia por *P. ostreatus* ao utilizar amido como substrato.

O desenvolvimento e as características morfológicas da massa micelial obtida em BDAYE podem influenciar de forma positiva nas etapas subsequentes de produção de *P. ostreatoroseus*. Guadarrama-Mendoza *et al*. (2014) e Hoa e Wang (2015) afirmaram que o desenvolvimento micelial, em meios de cultura, é um dos principais parâmetros de escolha para o cultivo de cogumelos. Marino *et al*. (2008) relataram que a rápida colonização e formação de micélio vigoroso são parâmetros que indicam a eficácia do substrato a ser colonizado, diminui perdas por contaminação, além de reduzir o período de incubação e frutificação do cogumelo. Não existe um critério unificado para citar as características do crescimento de cogumelos em meio de cultura sólido (Guadarrama-Mendoza *et al*., 2014).

Tabela 1 - Média da velocidade do crescimento micelial radial de *P. ostreatoroseus* cultivado, a 25 °C por oito dias, em meios de cultura suplementados com extrato de levedura (YE) 0,5% (p/v).

Meios de Cultura	Velocidade de crescimento micelial radial (mm/dia)	Micélio		
		Textura	Densidade	Crescimento (dias)
BDAYE	17,80 ± 0,28 [a]	Cotonosa	Alta	5
SABYE	17,24 ± 0,55 [a]	Cotonosa	Alta	5
CEINYE	17,16 ± 0,43[a]	Cotonosa	Alta	8
GYP	17,04 ± 0,60 [a]	Lanoso	Regular	8
MGYP	16,96 ± 0,57 [a]	Lanoso	Regular	8
CEDYE	15,16 ± 1,85[b]	Lanoso	Baixa	8

BDAYE (Ágar batata dextrose); SABYE (Ágar Sabouraud); CEINYE (Cará-de-espinho *in natura*); GYP (Glicose+Peptona); MGYP (Ágar Extrato de Malte+Glicose+Peptona); CEDYE (Cará-de-espinho desidratado). Letras iguais na mesma coluna não diferem estatisticamente pelo método de Tukey ($\rho>0,05$).
Fonte: Autores.

Shim *et al*. (2005) citaram que a avaliação do diâmetro da colônia, em um determinado período, constitui um fator de seleção de meios de cultura para fungos filamentosos. O crescimento micelial varia, de acordo com a espécie e com as características nutricionais dos meios de cultivo, dados observados na investigação realizada com *Lentinus* sp. e *Pleurotus* sp. (CHANG e MILES, 2004; KLOMKLUNG *et al*., 2014)

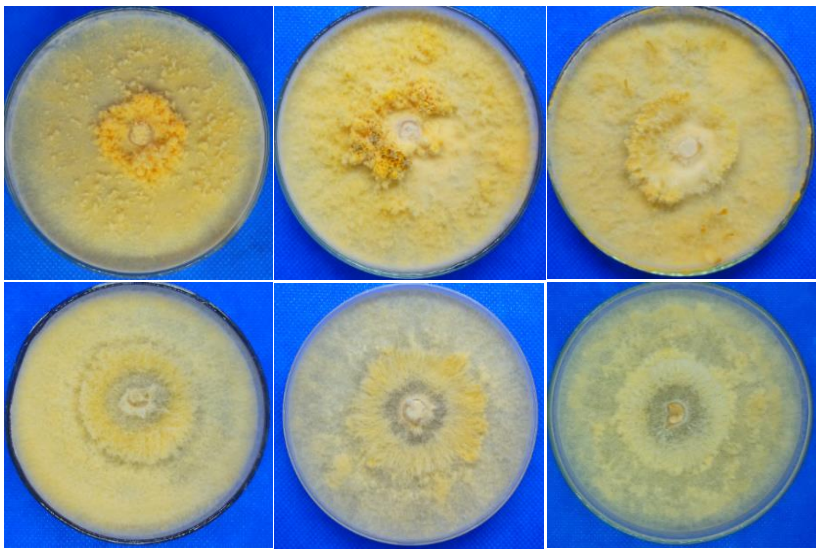
Os resultados obtidos no presente estudo mostraram que BDAYE foi o meio promissor para o desenvolvimento rápido da massa micelial de *P. ostreatoroseus*. Na sua ausência, tanto SABYE quanto CEINYE constituem meios opcionais para o crescimento

desse cogumelo (Tabela 1). O uso de *D. altissima* na formulação de CEINYE é uma alternativa inovadora que, além de valorizar esse tubérculo nativo da Amazônia, incentiva o desenvolvimento sustentável da agricultura familiar regional.

A classificação quanto à textura e à densidade micelial de *P. ostreatoroseus* estão demonstrados na Tabela 1. Nos meios BDAYE, SABYE, CEINYE, foi verificado micélio de textura cotonosa com densidade variando de alta à média. Em GYP, MGYP e CEDYE, o cogumelo apresentou textura lanosa e densidade regular e baixa (Figura 1). Souza (2014) e Martins (2016) observaram predomínio de textura cotonosa e lanosa, respectivamente, ao realizar a caracterização macromorfológica de fungos filamentosos. Quanto à densidade micelial, Guadarrama-Mendoza (2014) atribuiu classificação subjetiva variando de alta, média, regular e baixa para *Pleurotus* sp.

A diversidade da densidade micelial, demonstrada por *P. ostreatoroseus*, nos meios de cultura avaliados, está relacionada tanto com a qualidade nutricional e a outros fatores como pH, temperatura, luminosidade, umidade e oxigenação que influenciam no desenvolvimento e no vigor micelial. Benlounissi *et al*., (2012) e Fonseca *et al*., (2015) também admitiram que fontes nutricionais e fatores ambientais têm ação no crescimento micelial de cogumelos comestíveis.

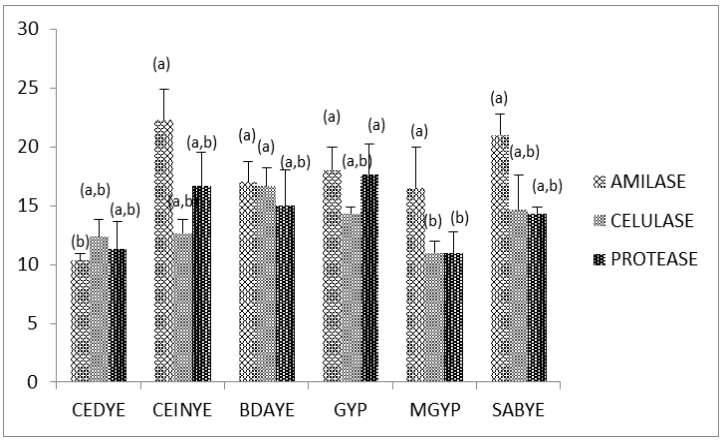
Figura 1 - Densidade micelial de *P. ostreatoroseus* em diferentes meios de cultivo



A= BDAYE (ágar batata+extrato de levedura 0,5%, p/v); B= SABYE (Ágar Sabouraud); C= CEINYE (Ágar Cará-de-espinho *in natura*); D= GYP (Ágar Glicose + Peptona); E= MGYP (Ágar Extrato de Malte + Glicose + Peptona); F= CEDYE (Ágar Cará-de-espinho desidratado).
Fonte: (Autores)

A Figura 2 demonstra o potencial biotecnológico de *P. ostreatoroseus* como fonte de hidrolases, amilases, células e proteases. Nas condições experimentais avaliadas, *P. ostreatoroseus* sintetizou enzimas hidrolíticas em todos os meios de cultura avaliados. Valores significativos das atividades de amilase, celulase e protease foram observados em 83,33% dos meios utilizados. Os halos superiores de degradação enzimática, para amilase (22,33 mm), celulase (16,67 mm) e protease (17,67 mm), foram observados em CEINYE, BDAYE e GYP, respectivamente. Souza *et al*. (2008) verificaram halos de hidrólise, para amilase (17,5 mm), celulase (21,4 mm) e protease (10,9 mm), quando T*rametes* sp. 11E4 foi cultivado em BDA. As investigações de Hadda *et al*. (2015) e Rajoriya e Gupta (2016), utilizando *Ganoderma* sp. e *Russula brevipes*, respectivamente, também constataram que essas espécies são fontes de amilase, celulase e protease.

Figura 2 - Atividade de amilase, celulase e protease de P. ostreatoroseus em meio de cultivo suplementado com extrato de levedura (YE) 0,5% (p/v)



CEDYE (Cará-de-espinho desidratado); CEINYE (Cará-de-espinho in natura); BDAYE (Ágar batata dextrose); GYP (Glicose+ Peptona); MGYP (Ágar Extrato de Malte+Glicose +Peptona); SABYE (Ágar Saboraud).

Proteases são enzimas de maior importância comercial, são catalisadores que têm extensa aplicação industrial (RAZZAQ *et al*., 2019). A Tabela 2 apresenta os resultados da produção de proteases por *P. ostreatoroseus* nos meios CEINYE e BDAYE líquido. Nas condições de análise, valores significativos de atividade proteolítica foram determinados em extrato de Cará-de-espinho *in natura* [CEINYE (25,87 U/mL)] e BDAYE (22,00 U/mL). Estes dados mostram a eficácia do meio CEINYE formulado com o extrato da biomassa de *Dioscorea altissima* Lamarck, cujo tubérculo tem produção equivalente a 100 Kg/planta, mas ainda não tem cadeia produtiva estabelecida na Amazônia (Teixeira *et al*., 2016). A

destinação para o cultivo de fungos pode estimular a exploração dessa matéria-prima e contribuir para a geração de novo produto ao uso como fonte de carbono e outros nutrientes.

Quando avaliado o tempo de fermentação, a atividade das proteases significativa foi determinada no quarto dia de cultivo. Ainda foi observado que, com o aumento do tempo de cultivo, houve decréscimo de atividade enzimática, tanto em CEINYE como em BDAYE (Tabela 3). Barbosa *et al*. (2020) e Fonseca *et al*. (2014) determinaram atividade proteolítica de 26,53 U/mL e 7,89 U/mL, quando *P. ostreatoroseus* foi cultivado em resíduo do processamento de açaí e cupuaçu, respectivamente. Martim *et al*. (2017) relataram valor de 34 U/mL na caracterização da atividade proteásica de *P. albidus* em GYP.

O uso de substratos regionais em bioprocessos, a exemplo de biomassa *in natura* ou desidratada ou na forma de resíduo lignocelulósico, resolve problemas ambientais, estimula a cadeia produtiva e, em consequência, viabiliza o desenvolvimento econômico e contribui para a geração de atividades sustentáveis (Teixeira *et al*., 2016; Siqueira *et al*., 2017).

Tabela 2 - Atividade de protease por fermentação submersa. Influência do tempo de fermentação e do meio de cultivo na atividade proteolítica de *P. ostreatoroseus*.

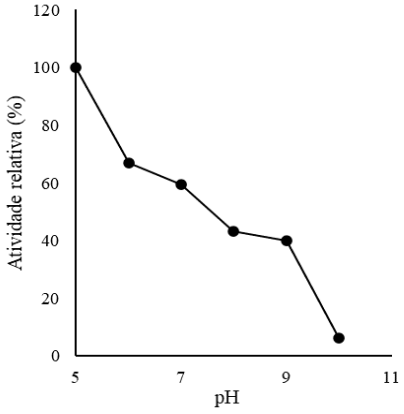
Tempo de fermentação (dias)	Atividade proteolítica (U/mL)	
	BDAYE	CEINYE
2	$8,66^{c} \pm 1,1$	$16,89^{b} \pm 1,9$
4	$22,00^{a} \pm 1,7$	$25,87^{a} \pm 1,6$
6	$14,66^{b} \pm 1,1$	$17,33^{b} \pm 1,8$
8	$11,55^{b,c} \pm 1,0$	$12,66^{b} \pm 0,6$

BDAYE = ágar batata dextrose + extrato de levedura (YE) 0,5 % (p/v); CEINYE = ágar cará-de-espinho *in natura* + extrato de levedura (YE) 0,5% (p/v). Letras iguais na coluna não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ($\rho < 0,05$).
Fonte: (Autores).

A atividade proteolítica em CEINYE foi 15% superior quando comparada com BDAYE. Esses resultados demonstram que *D. altissima* é uma matéria-prima promissora, para a formulação de meios de cultivo naturais, com aplicação na produção de proteases por *P. ostreatoroseus*. Com base nesses resultados, o extrato bruto obtido do cultivo de *P. ostreatoroseus* em CEINYE foi utilizado nos estudos de caracterização bioquímica.

O efeito do pH, na atividade de proteases de *P. ostreatoroseus*, em extrato de CEINYE, está demonstrado na Figura 3. Atividade ótima foi observada em pH 5,0, com decréscimo de ação catalítica em pH superiores. Resultado similar foi descrito por Martim *et al*., (2017) e Barbosa *et al*., (2020), para as proteases de *P. albidus* e *P. ostreatoroseus*, respectivamente. Entretanto Machado *et al*., (2017) verificaram que as proteases de *P. ostreatoroseus* cultivados em *D. alata* apresentaram atividade significativa em pH 7,0.

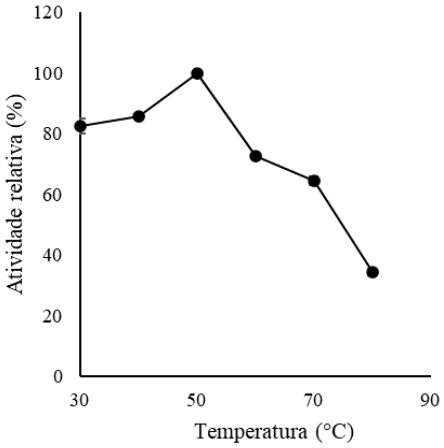
Figura 3 - Efeito do pH na atividade proteolítica de *P. ostreatoroseus*



Fonte: (Autores).

O efeito da temperatura, na atividade de proteases de *P. ostreatoroseus* em CEINYE, está demonstrado na Figura 4. As proteases demonstraram atividade, em todas as condições avaliadas, mas a ação catalítica significativa foi determinada em 50 ºC. O aumento da temperatura causou a redução da ação proteolítica, em 27,26%, 35,36% e 65,56% em 60 °C, 70°C e 80 °C, respectivamente. Machado *et al*. (2017) e Barbosa *et al*. (2020) relataram que *P. ostreatoroseus* sintetiza proteases com atividade significativa em 40 °C, quando cultivado em *D. alata* e em semente de açaí, respectivamente. Martim *et al*. (2017) e Pimenta *et al*., (2021) verificaram que as enzimas proteolíticas de *P. albidus* demonstraram ação catalítica significativa a 60 °C, em meio líquido constituído por meio líquido glicose, extrato de levedura e peptona e, em fermentação, em resíduos lignocelulósicos, respectivamente.

Figura 4 - Efeito da temperatura na atividade proteolítica de *P. ostreatoroseus*



Fonte: (Autores).

Os resultados obtidos no presente estudo indicam o predomínio de proteases ácidas com atividade na faixa de 30 a 50 °C no extrato bruto de *P. ostreatoroseus*. Estas enzimas proteolíticas são amplamente aplicadas no setor alimentício, na produção de queijo, em clarificação de cerveja e suco de frutas, amaciamento de carne, melhoria da textura de massas, além da elaboração de molho de soja, de temperos e hidrolisados proteicos (RAZZAQ *et al*., 2019; PIRES *et al*., 2019).

Biocatalisadores têm vantagens sobre outros métodos, são considerados seguros, "limpos e verdes". Assim, as proteases microbianas têm vantagens sobre as de origem vegetal ou animal, considerando que têm custo de produção economicamente de valor reduzido, diversidade bioquímica e são geneticamente manipuláveis (Majumder *et al*., 2015).

5.4 CONCLUSÃO

Pleurotus ostreatoroseus DPUA 1720 cresce e sintetiza enzimas tanto em meios de cultura tradicionais com em meios naturais formulados com *Dioscorea altissima*, tubérculo nativo da Amazônia. O meio BDAYE promove o desenvolvimento vigoroso da massa micelial de *P. ostreatoroseus* DPUA 1720, assim como SABYE e CEINYE. Os meios avaliados constituem substratos eficientes, para a síntese de amilases, celulases e protease, com exceção de CEDYE e MGYP. Em meio líquido CEINYE, há produção significativa de proteases ácidas com temperatura ótima a 50 °C. Os resultados evidenciam a expressiva eficiência de BDAYE, SABYE e CEINYE no crescimento e densidade micelial de P. *ostreatoroseus*. Desse modo, o meio formulado com extrato de biomassa de *Dioscorea altíssima* pode substituir BDA tanto para crescimento micelial quanto para a produção de amilases, celulases e proteases.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal do Amazonas-UFAM e, especialmente, ao Laboratório de Microbiologia Industrial e Médica e à Coleção de Culturas DPUA/UFAM, por disponibilizar todos os materiais e equipamentos necessários ao desenvolvimento da pesquisa.

REFERÊNCIAS

ARAÚJO, N. L. *et al*. Produção de biomassa micelial e enzimas lignocelulolíticas de *Pleurotus* spp. em meio de cultivo líquido. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 1, 2021.

BARBOSA, E. E. P. *et al*. Cultivo de cogumelo comestível em resíduos lignocelulósicos de floresta tropical para produção de proteases. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 11, p.92475-92485, nov. 2020.

BEHERA, S.; GUPTA, N. Utilization of vegetable waste for biomass production of some wild edible mushroom cultures. **An International Journal Tropical Plant Research**, v.2, n.1, p. 05-09. 2015.

BENLOUNISSI, A. *et al*. Milk-clotting fungus enzymes production: A sustainable development approach based on whey recycling. **African Journal of Biotechnology**, v. 11, n.8, p.1997-2005, 2012.

BONONI, V. L. R.; GIMENEZ, L. J. e ROJAS, A. C. B. Produção de cogumelos e biotecnologia. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE COGUMELOS NO BRASIL. 8., 2015. Sorocaba/São Paulo. **Anais** [...]. Sorocaba/SP: SICG, 2015. p. 96-109.

CASTILLO, T.A. *et al*. Mycelial Growth and Antimicrobial Activity of *Pleurotus* Species (Agaricomycetes). **International Journal of Medicinal Mushrooms**, v. 20, n. 2, p. 191- 200, 2018.

CHANG, S; MILES, G.P. **Cogumelos: cultivo, valor nutricional, efeitos medicinais e impacto ambiental**. Boca Raton, FL: CRC Press, 2004.

CHEN, L.S. *et al*. Produção de enzimas proteolíticas neutras por fermentação fúngica em meio semissólido. In: SIMPOSIO NACIONAL DE BIOPROCESSOS, 14., 2003, Florianópolis. **Anais** […]. 2003.

ENZYMES Market Size, Share & Trends Analysis Report by Application (Industrial Enzymes, Specialty Enzymes), By Product (Carbohydrase, Proteases, Lipases), By Source, By Region, And Segment Forecasts, 2020 - 2027.

ERGUN, S.O.; UREK, R.O. Production of ligninolytic enzymes by solid state fermentation using *Pleurotus ostreatus*. **Annals of Agrarian Science**, v.15, p. 273-277, 2017.

FONSECA, T. R.B. *et al*. Produção em matriz sólida e caracterização parcial das proteases de cogumelo comestível da floresta amazônica. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, v.8, n.1, p. 1227-1236, 2014.

FONSECA, T. R. B. *et al*. Cultivation and nutritional studies of edible mushroom from North Brazil. **African Journal of Microbiology Research**, v. 9, n. 30, p.1814-1822, 2015.

GRABARCZYK, M. *et al*. Mushrooms of the *Pleurotus* genus - properties and application. **Biotechnology and Food Science**, v. 83, n. 1, p.13-30, 2019.

GRIMM, D.; WÖSTEN, H. A. B. Mushroom cultivation in the circular economy. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 102, n. 18, p.7795-7803, 2018.

GUADARRAMA-MENDOZA, P.C. *et al*. Morphology and mycelial growth rate of *Pleurotus* spp. strains from the Mexican mixtec region. **Brazilian Journal Microbiology**, v. 45, n. 3, p. 861-872, set. 2014.

HADDA, M. *et al*. Screening of extracellular enzyme activities of Ganoderma and Fomes species collected from northeast Algeria. **Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences**, v.6, n.4, 2015.

HOA, H.T.; WANG, C.L. Effects of temperature and nutritional conditions on mycelium growth of two oyster mushrooms (*Pleurotus* ostreatus and *Pleurotus cystidiosus*). **Mycobiology**, v. 43, p.14-23. 2015.

KASANA, R.C. *et al*. A rapid and easy method for the detection of microbial cellulases on agar plates using Gram's iodine. **Current microbiology**, v.57, p.503 - 507. 2008.

KLOMKLUNG, N. *et al*. Optimal conditions of mycelial growth of three wild edible mushrooms from northern Thailand. **Acta Biologica Szegediensis**, v.58, n.1, p.39-43, 2014.

LAVELLI, V.; PROSERPIO, C.; GALLOTTI, F. LAUREATI, M.; PAGLIARINI, E. Circular reuse of bio-resources: the role of *Pleurotus* spp. in the development of functional foods. **Food Function**, v.3, 2018.

MACHADO, A. R. G.; MARTIM, S. R.; ALECRIM, M. M.; TEIXEIRA, M. F. S. Production and characterization of proteases from edible mushrooms cultivated on amazonic tubers. **African Journal of Biotechnology**, v. 16, n. 46, p. 2160-2166, 15 nov. 2017.

MAJUMDER, R., S.; BANIK, S. P.; KHOWALA, S. Purification and characterization of κ-casein specific milk-clotting metalloprotease from Termitomyces clypeatus MTCC 5091. **Food Chemistry**, v. 173, p. 441-448.

MARINO, R. H. *et al*. 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.

MARTIM, S. R. *et al*. Proteases ácidas de cogumelo comestível da Amazônia para aplicabilidade industrial. **Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi. Ciências Naturais**, Belém, v. 12, n. 3, p. 353-362, set.- dez. 2017.

MARTINS, O. de A. **Fungos anemófilos e leveduras isolados em ambientes de laboratórios de microbiologia em Instituição de Ensino Superior**. 2016. 64f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2016.

MENOLLI JUNIOR, N. *et al.* Morphological and Molecular Identification of four Brazilian Commercial Isolates of *Pleurotus* spp. and Cultivation on Corncob. **Brazilian Archives of Biology e Technology**, v.53 n.2: pp. 397-408, Mar/Apr 2010

MINITAB (2018). **Minitab statistical software**. LEAD Technologies, Inc. Version 18.0, 2017

MUTHU, N.; SHANMUGASUNDARAM, K. Effect of five different culture media on mycelial growth of Agrocybe aegerita. **International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research**, v. 6, n.12, p. 5193-97, 2015.

OMARINI, A. *et al*. 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. *et al*. Enzimas e aplicações biotecnologicas. In: TEXEIRA, M.F.S.(Org.). **Fungos da Amazônia: uma riqueza inexplorada**. Manaus: EDUA/UFAM, 2011.

PIMENTA, L. *et al*. Processo eco-amigável para selecionar substrato Lignocelulósico para produção de peptidases ácidas. **Brazilian Journal of Development**, Curitiba, v.7, n.1, p.3469-3479, jan. 2021.

PIRES, C.B.A. *et al*. Proteases produzidas por microorganismos na região amazônica. **Scientia Amazonia**, v. 8, n.1, 2019.

RAJORIYA, A.; GUPTA, N. Useful Extracellular Enzymatic Activity of Mycelial Culture of Some Edible Mushrooms of Odisha. **Agricultural Research & Tecnology** (Open Access Journal), v.3, n.1, 2016.

RAZZAQ, A; SHAMSI, S; ALI, A; ALI, Q; SAJJAD, M; MALIK, A; ASHRAF, M. Microbial Proteases Applications. **Frontiers In Bioengineering And Biotechnology**, [S. L.], v. 7, p. 1-44, 12 jun. 2019.

RITOTA, M.; MANZI, P. *Pleurotus* spp. Cultivation on Different Agri-Food By-Products: Example of Biotechnological Application. **Sustainability**, v. 11, 2019.

SASTRE-AHUATZI, M. *et al*. Crescimento micelial de cepas de *Pleurotus ostreatus* em ágar e sua correlação com produtividade em cultivo em escala piloto. **Brazilian Journal of Microbiol**. [online], v. 38, n. 3, p. 568-572, 2007.

SHIM, S. M. *et al*. The Characteristics of Cultural Conditions for the Mycelial Growth of Macrolepiota procera. **Mycobiology**, v. 33 n.1, 15-18, 2005.

SINGH, R. *et al*. Microbial enzymes: industrial progress in 21st century. **3 Biotech**, v.6, n. 17, 2016.

SOUZA, H. Q. *et al*. Seleção de Basidiomycetes da Amazônia para produção de enzimas de interesse biotecnológico. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, pg. 116-124, Campinas, SP, 2008.

SOUZA, J. R. S. **Diversidade fúngica associada a abelhas sem ferrão (Melipona spp.) em Meliponários na cidade de Manaus e Iranduba, Amazonas, Brasil.** 2014. 65 f. Dissertação (Mestrado em Diversidade Biológica) - Universidade Federal do Amazonas, Manaus, 2014.

SOUZA, R. A. T. *et al*. Nutritional composition of bioproducts generated from semi-solid fermentation of pineapple peel by edible mushrooms. **African Journal of Biotechnology**, v. 15, n. 12, p. 451-457, 2016.

SIQUEIRA, F. G.; ROMERO PELAEZ, R. D.; GONÇALVES, C. C.; CONCEIÇÃO, A. A.; MARQUEZ, A. F.; MENDONCA, S. Bioeconomia: resíduos lignocelulósicos agroindustriais pré-tratados por basidiomicetos para nutrição animal. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE COGUMELOS NO BRASIL, 9. [**Anais**...] São José dos Campos, SP. Anais... Brasília, DF: Embrapa, 2017, p. 91-102.

TEIXEIRA, L. S.; MARTIM, S. R.; SILVA, L. S. C.; KINUPP, V. F.; TEIXEIRA, M. F. S.; PORTO, A. L. F. Efficiency of Amazonian tubers flours in modulating gut microbiota of male rats. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 38, p. 1-6, 2016.

TUDSES, N. Isolation and Mycelial Growth of Mushrooms on Different Yam-based Culture Media. **Journal of Applied Biology & Biotechnology**, v.4, n.5, p.33-36, 2016.

6 CAPÍTULO III - CICLO DE PRODUÇÃO DE COGUMELOS COMESTÍVEIS CULTIVADOS EM RESÍDUOS LIGNOCELULÓSICOS DA FRUTICULTURA AMAZÔNICA: UM ESTUDO DE CASO EM MANAUS, AMAZONAS, BRASIL

Maria do Perpétuo Socorro Lima Verde, Adrya da Silva Figueiredo; Salomão Rocha Martim; Maria Francisca Simas Teixeira

RESUMO

A demanda por alimentos saudáveis e com propriedades terapêuticas está impulsionando a produção e a comercialização de espécies de *Pleurotus*. Em pequena escala comercial, esses cogumelos são cultivados em matriz sólida, utilizando diferentes substratos orgânicos. Resíduos lignocelulósicos disponíveis na Amazônia vêm demonstrando potencial para a obtenção de basidiomas de *Pleurotus* spp. Este trabalho apresenta contribuições científicas promissoras que demonstram os ciclos de produção de *Pleurotus ostreatoroseus* e *P. albidus*, cultivados em resíduos da fruticultura amazônica pela tecnologia da fermentação no estado sólido. *Pleurotus ostreatoroseus* e *P. albidus* desenvolveram a fase micelial completa, em grãos de trigo (*spwan*), em 15 dias e cinco dias, respectivamente. Essas espécies demonstraram pequenas diferenças nos ciclos produtivos quando cultivadas em exocarpo de cupuaçu misturado com farelo de arroz [80:20 (% p/p)]. *Pleurotus ostreatoroseus* apresentaram dois fluxos de produção: o primeiro aos 23 dias de cultivo e o segundo fluxo aos 42 dias. Para *Pleurotus albidus*, foi observado apenas um fluxo produtivo, caracterizado pela maturação e colheita dos basidiomas aos 15 dias de cultivo. Resíduos lignocelulósicos da fruticultura amazônica são substratos eficientes para a produção de *P. ostreatoroseus* e *P. albidus*. Embora os três ciclos produtivos dessas espécies estejam bem caracterizados, nos cultivos de exocarpo de cupuaçu (*Theobroma grandiflorum* (Willd. Ex Spreng.) Schum) e farelo de arroz, novos substratos devem ser avaliados para incrementar a eficiência biológica desses cogumelos, em especial, *P. albidus*.

Palavras-chave: basidioma; fermentação em estado sólido; *Pleurotus albidus; Pleurotus ostreatoroseus; Theobroma grandiflorum.*

ABSTRACT

The demand for healthy foods with therapeutic properties is driving the production and commercialization of *Pleurotus* species. On a small commercial scale, these mushrooms are cultivated in solid matrix, using different organic substrates. Lignocellulosic residues available in the Amazon have shown potential for obtaining basidiomas of *Pleurotus* spp. This work presents promising scientific contributions that demonstrate the production cycles of *Pleurotus ostreatoroseus* and *P. albidus*, cultivated in Amazonian fruit production residues by solid state fermentation technology. *Pleurotus ostreatoroseus* and *P. albidus* developed the complete mycelial phase in wheat grains (spwan) in 15 days and five days, respectively. These species showed small differences in production cycles when cultivated in cupuaçu exocarp mixed with rice bran [80:20 (% w/w)]. *Pleurotus ostreatoroseus* showed two production flows: the first at 23 days of cultivation and the second flow at 42 days. For *Pleurotus albidus* only one productive flow was observed, characterized by the maturation and harvest of the basidiomes at 15 days of cultivation. Lignocellulosic residues from Amazonian fruit production are efficient substrates for the production of *P. ostreatoroseus* and *P. albidus*. Although the three productive cycles of these species are well characterized in cupuaçu exocarp and rice bran cultures, new substrates must be evaluated to increase the biological efficiency of these mushrooms, especially *P. albidus*.

Keywords: basidioma; solid state fermentation; *Pleurotus albidus; Pleurotus ostreatoroseus*; *Theobroma grandiflorum*

6.1 INTRODUÇÃO

Os cogumelos são universalmente reconhecidos como alimentos e vêm sendo amplamente cultivados, em escala comercial, em diversos países. Espécies de cogumelos comestíveis têm despertado interesse socioeconômico, não só por constituírem um *pool* de nutrientes (proteínas, carboidratos, minerais, vitaminas, aminoácidos essenciais, baixo teor de gorduras e fibra dietética), mas também por sintetizarem compostos antimicrobianos, antioxidantes, antitumoral, anticancerígeno, antiviral, anti-inflamatório, entre outros, que os caracterizam como alimentos funcionais (BEHERA e GUPTA, 2015; BONONI *et al*., 2015).

Espécies de *Pleurotus* que são produzidas em pequena e grande escala, em muitos países, ocupam a terceira posição na produção de cogumelos comestíveis (GOGAVEKAR, *et al*. 2014; CORRÊA *et al*., 2016; ADEBAYO e ALOKE, 2017). *Pleurotus ostreatoroseus* e *P. albidus*, que estão disponíveis no mercado, geralmente, são colhidos de ecossistemas florestais de clima tropical e subtropical que constituem agentes de degradação de diversos resíduos lignocelulósicos (MARTIM *et al*., 2017; GAMBATO *et al*., 2018; SILVA et al., 2021).

Com base no hábito de vida dos cogumelos, a produção envolve um conjunto de processos que viabilizam a conversão de resíduos lignocelulósicos em alimentos de alta qualidade nutricional (ATILA, 2016). Neste contexto, a produção de cogumelos está alinhada com os conceitos atuais de economia circular, modelo econômico voltado para o uso eficiente de recursos por meio da minimização de resíduos e ciclos fechados de produtos (MORSELETTO, 2020). Além disso, o cultivo de cogumelos, para fins comerciais, auxilia na proteção de recursos naturais e gera benefícios socioeconômicos que podem contribuir para o desenvolvimento regional sustentável (MEYER *et al*., 2020).

A fermentação no estado sólido é uma tecnologia eficiente e barata para a produção de cogumelos, pois neste bioprocesso são utilizados resíduos lignocelulósicos como substrato para o crescimento dos fungos comestíveis (ARAUJO *et al*., 2016; ZIED e IOSSI, 2018). Entretanto, para atender à demanda crescente por cogumelos comestíveis e promover o desenvolvimento econômico, em diversos países, pesquisas são realizadas para o aprimoramento de técnicas de produção, associadas ao uso ambientalmente correto de substratos da fruticultura regional (ITA *et al*., 2015; MKHIZE *et al*., 2017).

No Brasil, em especial na região Norte, substratos da fruticultura amazônica vêm sendo utilizados nos cultivos, em escala laboratorial, para avaliar e otimizar o ciclo produtivo de diferentes espécies de cogumelos com potencial econômico. Exocarpo de cupuaçu

misturado com casca de arroz (*Oryza sativa* L.) foram eficazes, para a produção de *Lentinus citrinus* e *P. ostreatus*, evidenciando a formação basidiomas de excelente valor nutricional (TEIXEIRA *et al*., 2011; NEVES, 2014)

Com base no exposto, este trabalho tem por objetivo demonstrar os dados dos ciclos de produção das espécies de padrão genético amazônico *Pleurotus ostreatoroseus* e *Pleurotus albidus*, cultivados em resíduos lignocelulósicos da fruticultura amazônica, como um processo ecoamigável para a produção de alimentos alternativos e com qualidade nutricional.

6.2 MATERIAL E MÉTODOS

Nesta pesquisa foi realizado levantamento bibliográfico de acesso público, compreendendo dados relativos ao uso de resíduos lignocelulósicos da fruticultura amazônica e agroindustrial disponíveis em artigos, dissertações e teses desenvolvidas no Laboratório de Micologia Industrial e Médica, ambiente físico pertencente à Coleção de Culturas DPUA, da Universidade Federal do Amazonas-UFAM. Nesses trabalhos científicos, foram considerados dados que mostraram, desde a aquisição dos substratos, viabilidade, as estratégias e o respectivo ciclo de produção de *Pleurotus ostreatoroseus* e *P. albidus*, ambos do acervo da Coleção de Culturas DPUA.

6.3 RESULTADO E DISCUSSÃO

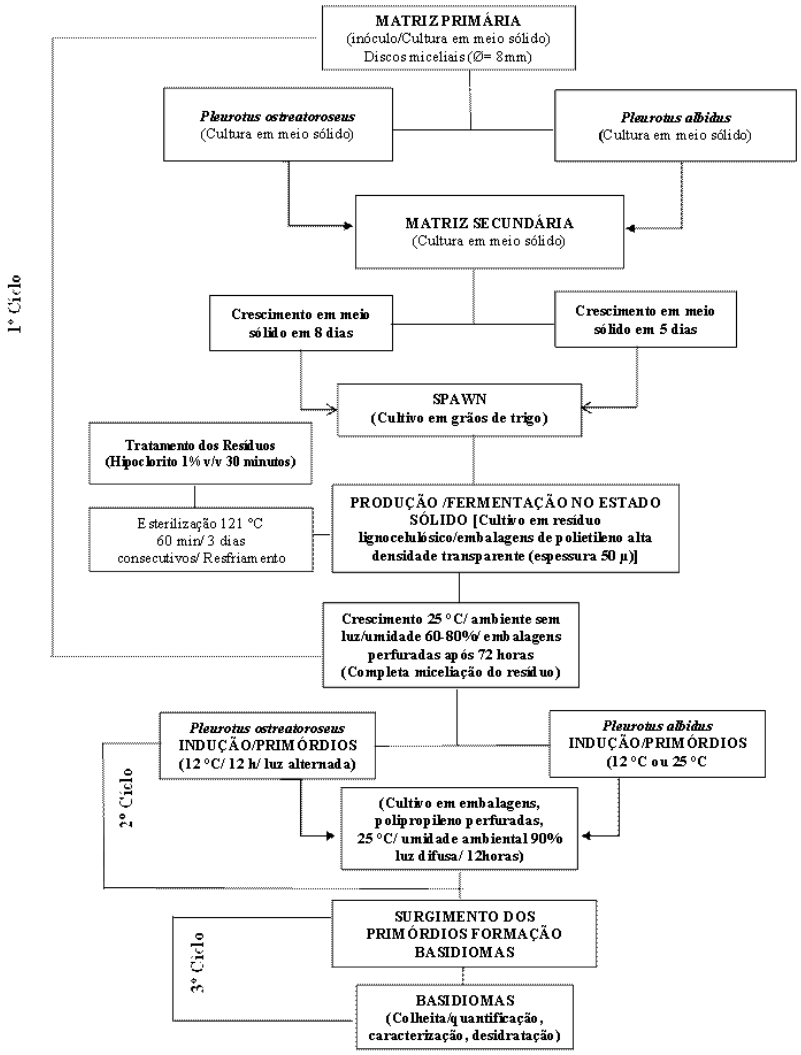
Comumente, *Pleurotus* são cultivados em condições ambientais controladas, com a finalidade do conhecimento do ciclo de vida, conservação ambiental, reutilização e/ou no reprocessamento de materiais para o desenvolvimento de tecnologias ecoamigáveis (PALHETA *et al*., 2011; SOUZA *et al*., 2016). Essas características biotecnológicas atendem aos requisitos de valorização de resíduos lignocelulósicos, além de auxiliarem no desenvolvimento econômico sustentável exigido pela economia circular moderna (GRIMM e WÖSTEN, 2018; PIMENTA *et al*., 2021).

Embora tenham valor econômico, gastronômico e medicinal, os cogumelos não estão incluídos como produto alimentício integrante da dieta da população brasileira. Inclusive, a busca por fungos comestíveis está aumentando, mas, em muitas regiões, há carência de empresas produtoras e, quando disponível no comércio importador, os altos

preços desses produtos dificultam o acesso pela população (AZEVEDO *et al*., 2014; GAMBATO *et al*., 2018; CABRERA *et al*., 2020).

Em ecossistemas florestais, cogumelos crescem em resíduos vegetais, condição que favorece a colonização de folhas, frutos, sementes, caules, entre outros. Essa capacidade de adaptação, em diversos substratos lignocelulósicos, favorece o cultivo desses fungos comestíveis em condições padronizadas *in vitro* (FONSECA *et al*., 2015; PANDEY *et al*., 2020). Desse modo, em estudos realizados com *P. ostreatoroseus* DPUA 1720 e *P. albidus* DPUA 1692, foi verificada a viabilidade da produção em substratos lignocelulósicos da fruticultura amazônica, usando a tecnologia de fermentação no estado sólido, bioprocesso observado em três ciclos, conforme apresentado na Figura 1.

Figura 1 - Fluxograma da produção de *P. ostreatoroseus* DPUA 1720 em resíduo lignocelulósico suplementado com grãos de cereais.



Fonte: Fonseca *et al*. (2014); Pimenta *et al*., (2021) e Barbosa *et al*., (2021).

Os resultados de uma pesquisa motivadora, que promoveu a geração de novos estudos e oportunidades bioeconômicas, mostraram a viabilidade da cadeia tecnológica produtiva de *P. ostreatoroseus* isolado do bioma amazônico. Nessa produção orgânica, realizada por Fonseca *et al*., (2014), no início do ciclo de crescimento, *P. ostreatoroseus* desenvolveu a fase micelial completa em grãos de trigo (*spwan*), em 15 dias. Após inoculação do *spawn* em exocarpo de cupuaçu misturado com farelo de arroz [80:20 (% p/p)], foi verificado o surgimento dos primórdios em três dias, seguido do crescimento e maturação dos basidiomas. A primeira colheita que caracterizou o primeiro fluxo foi feita aos 23 dias de cultivo (Figura 2) e, em 42 dias, o segundo fluxo. Ao término da colheita, os basidiomas foram desidratados em condições adequadas para a manutenção de suas propriedades nutricionais e funcionais.

Figura 2 - Produção de *P. ostreatoroseus* DPUA 1720: (A) em exocarpo de cupuaçu+farelo de arroz (CC+FA com grãos de trigo; (B) Surgimento dos primórdios; (C) Primórdios e início do crescimento dos basidiomas; (D) Basidiomas maduros (E) = (Primeiro Fluxo).

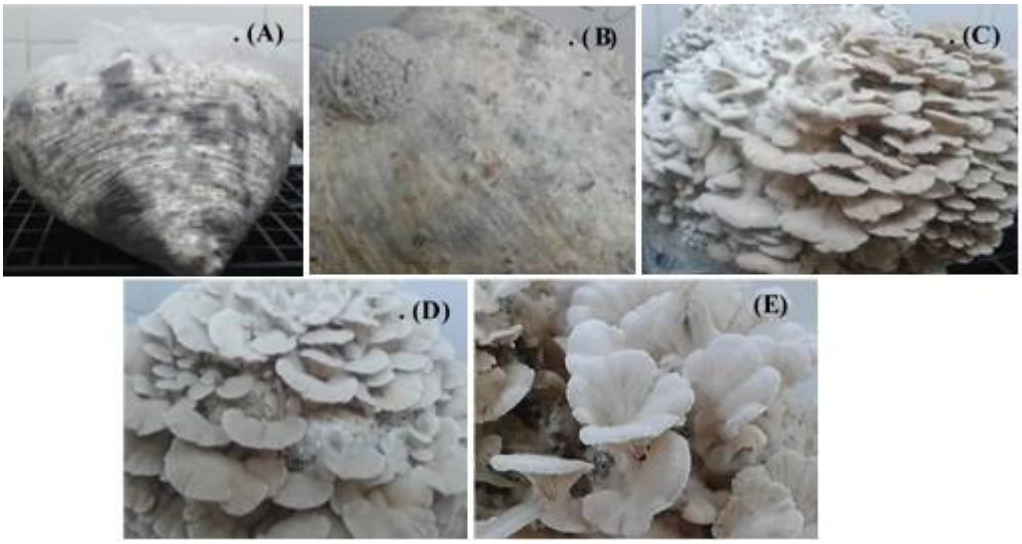
Fonte: Fonseca *et al*., (2014) e Fotos da Coleção DPUA/UFAM.

A Figura 2 mostra também que *P. ostreatoroseus* possui basidiomas de superficie lisa e coloração rósea característica dessa espécie. Barbosa, E. *et al*. (2021) relataram características similares, além de odor agradável e textura firme dos basidiomas. Para essa espécie, nas condições de cultivo, a estimativa de produção, com base na eficiência biológica, foi 22,90%, em média. Eficiência biológica é uma variável que mostra a capacidade do cogumelo converter o substrato em basidiomas (corpo de frutificação) (CHANG e MILES, 2004; OLIVEIRA *et al*., 2007). Valor de eficiência biológica de aproximadamente 20% revela que se trata de substrato recomendável para uso no cultivo de cogumelo comestível, além de mostrar que, para cada 100 kg de substrato úmido, a produtividade pode abranger 20 kg de

cogumelos *in natura* (STEFFEN *et al*., 2020). Na mistura de substrato formulado com exocarpo de cupuaçu, a biomassa de *P. ostreatoroseus* foi caracterizada como um produto alimentício com teor significativo de proteína e fibra, baixo teor de lipídio, podendo ainda fornecer sais minerais e aminoácidos (FONSECA, 2013).

Pleurotus albidus é outra espécie que vem sendo investigada em relação aos aspectos fisiológico, biotecnológico e nutricional. Nos cultivos em resíduo lignocelulósico, em condições ambientais controladas, foram observados a colonização do substrato e o ciclo de produção de *P. albidus*. O *spwan* totalmente miceliado foi obtido em cinco dias e inoculado nos seguintes resíduos da fruticultura amazônica: exocarpo de cupuaçu misturado com farelo de arroz [80:20 (% p/p)]. Em cinco dias, foi observada a miceliação total do substrato e, após choque térmico a 12 °C, formação dos primórdios, em seis dias. O início do desenvolvimento dos basidiomas ocorreu aos nove dias de cultivo e com 15 dias a maturação e colheita dos basidiomas (Primeiro Fluxo), Figura 3. A análise de composição centesimal evidenciou que, entre os nutrientes de *P. albidus*, predominou o conteúdo de proteínas (33,31 g/100g de produto).

Figura 3 - Produção de *P. albidus* DPUA 1692: (A) em exocarpo de cupuaçu+ farelo de arroz (CC+FA), inoculado com *spwan* preparado com grãos de trigo; (B) Surgimento dos primórdios; (C) crescimento dos basidiomas; (D) Basidiomas maduros (E) (Primeiro Fluxo).



Fonte: Fotos do Coleção da Coleção DPUA/UFAM.

Nas condições avaliadas, *P. albidus* demonstrou crescimento rápido, invasor e excelente viabilidade para a reprodução, porém a eficiência biológica foi baixa (5,33%). A

eficiência biológica inferior à desejável, para a produção em escala industrial, está associada ao quantitativo de basidiomas desenvolvidos, condição que dificulta o crescimento dessas estruturas. Embora *P. albidus* não tenha apresentado crescimento eficaz *in vitro*, foi observado ciclo de produção completo. A partir destes resultados, outros estudos estão em andamento, para a identificação das condições de cultivo adequadas, para a produção em grande escala, utilizando resíduos da fruticultura amazônica.

Em um estudo pioneiro realizado por Kirsch *et al*., (2016), usando a tecnologia do cultivo em meio líquido, foi verificado que fonte de carbono e nitrogênio, além do pH, volume de inóculo e velocidade de agitação, são fatores que comprometem significativamente a produção de biomassa *P. albidus*.

Dados da literatura já comprovaram sua importância biotecnológica como fonte de diversos compostos bioativos. Souza *et al*. (2016) cultivaram *P. albidus* em casca de abacaxi e concluíram que a biotransformação desse resíduo resulta em um bioproduto com teores significativos de fibras (14,23%), proteínas (8,61%) e minerais (5,26%), que pode ser utilizado para aumentar o valor nutricional e biológico de produtos de panificação.

Teixeira e Martim (2017) por processos tecnológicos concluiu que *P. albidus* sintetiza proteases coagulantes do leite bovino com características bioquímicas adequadas para uso na fabricação de queijo. Atualmente, o processo de produção e extração de coagulante do leite bovino utilizando *P. albidus* consta no depósito de pedido nacional de patente nº BR 10 2017 014672 3 A2.

Em outros experimentos realizados com exocarpo de cupuaçu com farelo de arroz, *P. albidus* foi uma espécie que sintetizou peptidases ou proteases ácidas, com predomínio de metalo e cisteíno peptidases, características que revelam aplicabilidade na indústria de alimentos (PIMENTA *et al*., 2021).

6.4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Pleurotus ostreatoroseus e *P. albidus* desenvolvem ciclos completos, constituídos pela fase vegetativa, de reprodução e a formação de basidiomas, quando cultivados em resíduos lignocelulósicos da fruticultura amazônica. Independente das características físicas dos basidiomas, ambas as espécies são fonte de nutrientes e biocompostos de interesse industrial. O cultivo de *P. ostreatoroseus* e de *P. albidus*, em substratos vegetais disponíveis na Amazônia, é uma alternativa biotecnológica, para a produção de alimentos saudáveis com

elevada qualidade nutricional e funcional, além de constituir uma alternativa ecoamigável para o desenvolvimento socioeconômico regional.

REFERÊNCIAS

ADEBAYO, E. A.; OLOKE, J. K. Oyster mushroom (*pleurotus* species); a natural functional food. **Journal of Microbiology, Biotechnology Food Sciences**, [S. L.], v.7, n.3, p. 254-264, 2017.

ARAUJO, W.J. *et al*. Análise de custo da produção de champignon: estudo em uma propriedade rural no município de Domingos Martins-ES. **Revista Científica Intelletto**, v.1, n.1, p. 102-114, 2016.

ATILA, F. Effect of Different substrate Disinfection Methods on the Production of *Pleurotus* ostreatus. **Journal of Agricultural Studies**, v.4, n.4, 2016.

AZEVEDO, D. B.; OSORIO, R. M. L.; CARVALHO, R. Q. C.; CARDOSO, B. B. C. Cadeia de produção do cogumelo orgânico: o estudo de caso da empresa cogumelos brasilienses. **Revista de Gestão Ambiental e Sustentabilidade - GeAS**, v. 3, n.1. jan./ Abr 2014.

BARBOSA, E. E. P. **Biorrefinaria: exploração sustentável de resíduos lignocelulósicos para produção de cogumelo e bioproduto comestível**. 2021. Dissertação (Mestrado em Biotenologia) Universidade Federal do Amazonas, Manaus:UFAM/PPGBiotec, 2021. (Apresentação em 29/07/2021)

BARBOSA, E. E. P.; PIMENTA, L.; BRITO, A. K. P.; MARTIM, S. R.; TEIXEIRA, M. F. Cultivo de cogumelo comestível em resíduos lignocelulósicos de floresta tropical para produção de proteases. **Brazilian Journal of Development**. Curitiba, v. 6, n. 11, p.92475-92485, nov. 2020.

BEHERA, S.; GUPTA, N. Utilization of vegetable waste for biomass production of some wild edible mushroom cultures. **An International Journal Tropical Plant Research**, v.2, n.1, p.: 05-09. 2015.

BONONI, V. L. R.; GIMENES, L.J.; ROJAS, A.C.B. Produção de cogumelos e biotecnologia. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE COGUMELOS NO BRASIL. 8., 2015. **Anais**[...] Sorocaba/SP: SICG, 2015. p. 96-109. Disponível em: https://uniso.br/publicacoes/2015-anais-sicog/sicog-versaoonline.pdf. Acesso em: 05 jun 2018.

CABRERA, L. C.; CONSTANTINO, L. V.; ANTUNES, P. S.; GONÇALVES, L. S. A.; CORTE, L. E. Caracterização da produção de cogumelos comestíveis: um estudo de caso na região de Londrina, Paraná. **Pesquisa Sociedade e Desenvolvimento**, v.9, n.7, 2015. (Ciências Agrarias e Biológicas)

CASTILLO, T. A.; PEREIRA, J. R. G.; ALVES, J. M.; TEIXEIRA, M. F. S. Mycelial Growth and Antimicrobial Activity of Species of Genus Lentinus (Agaricomycetes) from Brazil. International Journal of Medicinal Mushrooms, v.19, n. 12, p.1135-1143, 2018.

CHANG, S; MILES, G.P. Cogumelos: cultivo, valor nutricional, efeitos medicinais e impacto ambiental. Boca Raton, FL: CRC Press, 2004.

CORRÊA, R.C.G. *et al*. Uso biotecnológico, nutricional e terapêutico de *Pleurotus* spp. (Cogumelo-ostra) relacionado com a sua composição química: Uma revisão sobre os

resultados da década passada. **Trends in Food Science & Technology**, [S. L.], v.50, p. 103-117, 2016.

FONSECA, T. R. B. ***Pleurotus ostreatoroseus* DPUA 1720: Avaliação do crescimento, produção de basidioma e determinação da atividade proteolítica em resíduos agroindustriais**. 2013. 77 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) Universidade Federal do Amazonas, Manaus, UFAM, 2013.

FONSECA, T. R. B.; BARRONCAS, J. F.; TEIXEIRA, M. F. S. Produção em matriz sólida e caracterização parcial das Proteases de cogumelo comestível da floresta Amazônica. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, v. 8, n. 1, p. 1227-1236, 2014.

FONSECA, T. R. B. *et al*. Cultication and nutritional studies of na edible mushroom from North Brazil. **African Journal of Microbiology Research**, v.9, n.30, p.1814-1822, 2015.

GAMBATO, G.; PAVÃO, E. M.; CHILANTI, G.; FONTANA, R. C.; SALVADOR, M.; CAMASSOLA, M. *Pleurotus albidus* Modulates Mitochondrial Metabolism Disrupted by Hyperglycaemia in EA. hy926 Endothelial Cells. **BioMed Research International**, [S. L.], v.2018, p.1-10, 19 jun.2018.

GOGAVEKAR, S.S. *et al*. Important nutritional constituents, flavour components, antioxidant and antibacterial properties of *Pleurotus sajor-caju*. **Journal Food Science Technology**, v.51, n.8, p. 1483-1491, 2014. Disponível em: DOI 10.1007/s13197-012-0656-5. Acesso em: 02 jul. 2019.

GRIMM, D.; WÖSTEN, H. A. B. Mushroom cultivation in the circular economy. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 102, n.18, p.7795-7803, 2018.

ITA, M. A. V.; ARANDA, D. P. B.; LEZAMA, C. P.; REYES, J. R. T.; MARTINEZ, A. I.; ROMERO-ARENAS, O. Evaluation of Substrates in the Elaboration of Secondary Inoculum for the Cultivation of *Pleurotus ostreatus*. **Journal of Pure and Applied Microbiology**, v. 12, n. 2, p. 679-686, jun. 2018.

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**, v.47, p. 658-664, 2016.

MARTIM, S. R.; SILVA, L. S. C.; ALECRIM, M. M.; SOUZA, B. C.; OLIVEIRA, I. M. A., TEIXEIRA, M. F. S. Proteases ácidas de cogumelo comestível da Amazônia para aplicabilidade industrial. **Boletim Museu Paraense Emílio Goeldi. Ciências Natural**. Belém, v. 12, n. 3, p. 353-362, set.-dez. 2017.

MEYER, V; BASENKO, E. Y; BENZ, J. P.; BRAUS, G. H.; CADDICK, M. X.; CSUKAI, M.; VRIES, R. P. de; ENDY, D; FRISVAD, J. C.; GUNDE-CIMERMAN, N. Growing a circular economy with fungal biotechnology: a white paper. **Fungal Biology And Biotechnology**, [S. L.], v. 7, n. 1, p. 1-55, 2 abr. 2020.

MKHIZE, S. S.; ZHARARE, G. E.; BASSON, A. K.; MTHEMBU, M. S.; CLOETE, J. Desempenho do cogumelo *Pleurotus pulmonarius* cultivado em resíduos de colmo de milho suplementado com vários níveis de farinha de milho e farelo de trigo. **Food Science Technology**, Campinas, v. 37, n. 4, pág. 570-577, dez. 2017.

MORSELETTO, P. Targets for a circular economy. **Resources, Conservation & Recycling**, v.153, 104553, 2020. https://doi.org/10.1016/j.resconrec.2019.104553

NEVES, K. C. S. **Produção de proteases coagulante por espécies de *Pleurotus* de resíduos vegetais da Amazônia**. Tese (Doutorado em Biotecnologia) Rede Nordeste de Biotecnologia - RENORBIO. Recife: UFPE, 2014.

OLIVEIRA, M. A.; DONEGA, M. A.; PERALTA, R. M.; SOUZA, C. G. M. Produção de inóculo do cogumelo comestível *Pleurotus pulmonarius* (Fr.) Quélet - CCB19 a partir de resíduos da agroindústria. **Ciência Tecnologia de Alimentos**. Campinas, v. 27(supl.), p.84-87, ago. 2007.

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.

PANDEY, A. K.; RAJAN, S.; SARSAIYA, S.; JAIN, S. K. Mushroom for the National Circular Economy. **International Journal of Scientific Research in Biological Sciences**, v.7, n. 6, p.58-66, dec. 2020.

PIMENTA, L.; BARBOSA, E. E. P.; BRITO, A. K. P.; MARTIM, S. R.; TEIXEIRA, M. F. S. Processo eco-amigável para selecionar substrato Lignocelulósico para produção de peptidases ácidas. **Brazilian Journal of Development**, Curitiba, v.7, n.1, p.3469-3479 Jan. 2021.

SILVA, S. D. da; SANTOS, E. C. dos; SILVA, W. M. C. da; MAGALHÃES, A. A. da S; BARBOSA, E. E. P; TEIXEIRA, M. F. S; PEREIRA, J. O; MOTA, A. J. da. Draft Genome Sequence of the Wild Edible Mushroom *Pleurotus ostreatoroseus* DPUA 1720. **Microbiology Resource Announcements**, [S. L.], v. 10, n. 4, p. 1-6, 28 jan. 2021.

SOUZA, R. A. T.; FONSECA, T. R. B.; KIRSCH, L. S.; SILVA, L. S. C.; ALECRIM, M. M.; CRUZ FILHO, R. F.; TEIXEIRA, M. F. S. Nutritional composition of bioproducts generated from semi-solid fermentation of pineapple peel by edible mushrooms. **African Journal of Biotechnology**, v.15, n. 12, p. 451-457, 23 mar, 2016.

STEFFEN, G. P. K.; STEFFEN, R. B.; HANDTE, V. G.; COSTA, A. F. P. Produção de cogumelos comestíveis em substratos orgânicos. Porto Alegre: SEAPDR/DDPA, 2020.

PIAIA, A.; MORAIS, R. M. **Produção de cogumelos comestíveis em Substratos orgânicos**. Porto Alegre: DDPA, 2020. (Circular: divulgação técnica, n.3).

TEIXEIRA, M. F. S.; PALHETA, R. A.; CASTILLO, T. A. **Bioproduto compreendendo micélio, processo de produção do mesmo, e composição alimentícia.** Depositante: Fundação Universidade do Amazonas. BR N. PI 1106545-1 A2. Depósito: 04 ago. 2011

TEIXEIRA, M. F. S.; MARTIM, S. R. **Produção e extração de coagulante do leite bovino utilizando o cogumelo *Pleurotus albidus***. Depositante: Fundação Universidade do Amazonas. BR 102017014672-3 A2. Depósito: 06 jul. 2017.

ZIED, D.C; IOSSI, M.R. Fungicultura: produção de alimentos em pequeno espaço, rápido ciclo de produção e alta tecnologia. **Revista Agronomia Brasileira**, v. 2, 2018.

7 CONCLUSÃO DA TESE

As espécies pesquisadas, *P. ostreatoroseus* e *P. albidus*, são brasileiras, adaptadas ao clima quente-úmido da região tropical. São de fácil cultivo, crescem em diferentes resíduos agrícolas e agroindustriais, grãos, capim, casca de frutos, decompostos naturalmente e, por absorção, nutrem-se dessa matéria decomposta e espontaneamente excretam enzimas que hidrolisam o composto em nutrientes.

O conhecimento sobre as espécies foi essencial à fundamentação do processo de pesquisa, direcionando com novos estudos.

O artigo publicado "Alternativa de fontes nutricionais para desenvolvimento da fase micelial e produção de hidrolases por cogumelo comestível de floresta tropical" foi uma atividade prática desenvolvida com a linhagem depositada na Coleção de Cultura DPUA, *Pleurotus ostreatoroseus*, de nº 1720.

7.1 RESULTADOS DA PESQUISA QUE ATENDEM AOS OBJETIVOS

1) Selecionar meios de cultivo para o desenvolvimento da cultura matriz das espécies investigadas.

- Foram testados seis meios de cultura. O melhor meio de cultivo, para o desenvolvimento da cultura matriz de *P. ostreatoroseus*, foi o BDA+YE. Mas CEIN+YE, meio natural, foi revelado como substituto, formulado com tubérculo regional conforme o Protocolo.

2) Avaliar o potencial biotecnológico em seis meios de cultura.

- O potencial biotecnológico de *P. ostreatoroseus* foi avaliado como fonte de hidrolases (enzimas) que formam novas moléculas: amilases, celulases e proteases, e poderá fazer parte do mercado valioso de enzimas.

3) Identificar as etapas do ciclo de produção em resíduos lignocelulósicos de *Pleurotus ostreatoroseus* e *Pleurotus albidus;*

- Desenhado um fluxo produzido de estudo de caso desenvolvido no Laboratório de Micologia Médica e Industrial/Coleção DPUA/UFAM. O bioprocesso foi padronizado em POPs, para compor o fluxo do ciclo de produção em resíduos lignocelulósicos de *Pleurotus ostreatoroseus* e *Pleurotus albidus.*

4) Sistematizar das etapas do ciclo produtivo das espécies selecionadas, expondo os métodos e os aspectos dos cogumelos que são relevantes para negociação.

A sistematização do ciclo produtivo caracterizada em fluxos operacionais de um processo ecoamigável em ambiente controlado. Os métodos do processo e os aspectos morfológicos de todas as fases dos ciclos são informações técnicas relevantes para um processo de transferência de *know how* a produtores que queiram incrementar seus negócios produzindo cogumelos originários do bioma Amazônico, com segurança e inclusos em processos biotecnológicos padronizados.

8 PERSPECTIVAS FUTURAS

a) Cogumelos comestíveis do bioma amazônico apresentam perfil para compor uma matriz alimentícia;
b) A produção de cogumelos está alinhada aos novos conceitos de economia circular, modelo econômico, baseado no empreendimento da reutilização de materiais orgânicos;
c) As espécies do bioma amazônicos deverão fazer do mercado de cogumelos comestíveis de amplo desenvolvimento em diversos segmentos, do agronegócio ao setor de transformação;
d) Produção de cogumelos *P. ostreatoroseus* e *P. albidus* poderão no futuro serem certificados como de origem da Amazônia.