

## **AVALIAÇÃO DE DIFERENTES MÉTODOS DE PRESERVAÇÃO DE CULTURAS FÚNGICAS UTILIZADAS NO LABORATÓRIO DE CULTIVO DE FUNGOS COMESTÍVEIS DA CPPF**

Kelly Magalhães GONÇALVES<sup>1</sup>, Ceci Sales-CAMPOS<sup>2</sup>, Rogério Eijii HANADA<sup>3</sup>, Meire Cristina Nogueira de ANDRADE<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Bolsista PIBIC/CNPq; <sup>2</sup>Orientador INPA/CPPF; <sup>3</sup>Colaborador INPA/CPPF

### **1. Introdução**

Os cogumelos são alimentos muito apreciados desde a idade antiga por se acreditar em seu elevado valor nutritivo e em seu potencial medicinal, além de ser classificados como especiaria nobre em pratos culinários. São conhecidas aproximadamente 2.000 espécies comestíveis e cerca de 25 delas são cultivadas comercialmente. Dentre essas, existem três espécies mais comumente cultivadas e consumidas no Brasil: *Agaricus bisporus* (Lange) Imbach, conhecido como champignon de Paris; *Lentinula edodes* (Berk.) Pegler como Shiitake; e *Pleurotus ostreatus* (Jacq. ex Fr) Kummer, como shimeji ou hiratake (Urban *et al.*, 2001). Em especial, o cultivo de espécies do gênero *Pleurotus* cresce a cada ano, devido principalmente a sua habilidade de produção em diferentes resíduos (Guzmán *et al.*, 1993; Eira *et al.*, 1997; Chang e Miles, 1984), dentre os quais, serragens e resíduos agroindustriais (Sales-Campos *et al.*, 2008). O contínuo isolamento de culturas e a necessidade de sua manutenção para estudos acerca do cultivo, produtividade, caracterização nutricional, biotecnológica, tanto para objetivos acadêmicos como para fins comerciais e industriais, contribuirão com futuras pesquisas abordadas neste contexto. Desta forma, a manutenção das culturas auxiliará no processo de consolidação do laboratório de Cultivo de Fungos Comestíveis do INPA/CPPF, inaugurado em dezembro de 2008. Dentro deste contexto, o trabalho teve como objetivo avaliar diferentes métodos de preservação de culturas fúngicas, com o propósito de pesquisas acerca do cultivo de cogumelos e estudos afins.

### **2. Material e Métodos**

Inicialmente foram selecionadas as matrizes que já se encontravam no Laboratório de Cultivo de Fungos Comestíveis. As mesmas são procedentes da UNESP e fazem parte dos projetos: Estudo da bioconversão de resíduos lignocelulíticos da Amazônia para cultivo de fungos comestíveis e Inovação tecnológica no preparo de substratos alternativos para o cultivo de cogumelos comestíveis na região de Manaus-Am. Tais linhagens se encontravam preservadas nos métodos de água destilada e óleo mineral, totalizando 37 culturas diferentes. Com o fim de promover maior vigor micelial destas culturas, as mesmas foram repicadas em placa de Petri nos meios: malte ágar e BDA e incubadas a 25 °C em BOD, até que o crescimento micelial alcançasse aproximadamente 2/3 da placa. A partir da repicagem destas culturas procedeu-se o armazenamento das mesmas nos diferentes métodos: preservação em água destilada, em óleo mineral, repicagens periódicas e sílica gel. Para preservação em água destilada, discos de inóculos das culturas foram transferidos para 4 tubos de ensaio contendo 4 mL de água destilada estéril (dois para cada meio de cultura citado). Os tubos de ensaio foram lacrados com tampa de baquelite e armazenados em geladeira a 4 °C. A preservação em óleo mineral seguiu o mesmo princípio utilizado para a preservação em água destilada. Para o método de repicagens periódicas, as culturas foram repicadas em 4 tubos de ensaio contendo os meios malte ágar (3%) e BDA (sendo dois tubos por cada meio) e mantidos em estufa a 25 °C ± 2 °C até que o fungo preenchesse quase toda superfície do meio. Em seguida, os tubos foram mantidos em refrigerador (4 °C). A preservação em sílica gel seguiu a metodologia descrita por Dhingra e Sinclair (1995), com algumas modificações. Inicialmente, as culturas foram repicadas em placas de Petri contendo meio de malte ágar (3%) e BDA e mantidas em estufas a 25 °C ± 2 °C até completarem 2/3 de crescimento micelial da linhagem fúngica. Em seguida, foi adicionada serragem de *Simarouba amara* (marupá) dentro das placas de Petri, as quais foram novamente mantidas em estufa (25 °C ± 2 °C) por sete dias. Após o período de incubação foi vertido leite

desnatado (10%) estéril, visando preparar uma suspensão de inóculo, que foi transferida para novas placas, as quais permaneceram dois a três dias a  $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Paralelamente foram preparados frascos de vidro escuros (com capacidade para 10 mL) nos quais foram depositada a serragem embebida no leite. Estes, foram preenchidos até  $\frac{3}{4}$  da sua capacidade com sílica gel, de granulometria de 4 a 8 mm de diâmetro. Na superfície da sílica gel foi colocado um disco de papel filtro de diâmetro igual ao do frasco, para receber o inóculo do fungo crescido na serragem, embebida no leite. Foram utilizados também dois frascos por cada linhagem, provenientes dos meios malte agar e BDA, os quais também foram armazenados a  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Para verificar a eficiência dos métodos foi feita uma avaliação após seis meses de preservação. Para isto, foram utilizados dois tubos das culturas mantidas nos diferentes métodos. Fragmentos destas culturas foram novamente inoculadas em placas de Petri contendo meio malte agar (3%). Foram feitas quatro repetições (placas) por linhagem, das quais duas foram adicionadas de serragem de marupá, com o fim de testar a eficácia dos referidos métodos.

### 3. Resultados e discussão

Todos os fungos cresceram e apresentaram vigor micelial intenso (Figuras 1, 2, 3, 4) em todos os métodos de conservação, exceto em sílica gel, onde somente *Lentinus strigosus* cresceu (Figura 5), tornando esse método ineficaz para os demais fungos. *Lentinus strigosus* foi o fungo que apresentou o crescimento mais rápido e, nos demais métodos, cresceu em cinco dias. O período de colonização das linhagens de *Pleurotus ostreatus* POS 98/40, POS 98/38, POS 02/61, POS 02/57 e POS 02/56, provenientes dos métodos de preservação em água destilada, óleo mineral e repicagem periódica foi seis dias, sem diferença do tempo de colonização entre os métodos. A linhagem de *Pleurotus sajor-caju* PSC 96/03 e as linhagens de *Pleurotus ostreatus* POS 01/44, POS 02/51, POS 02/52, POS 02/54, POS 02/55, POS 02/60, POS 02/69, POS 96/05, POS 97/14, POS 97/18 e POS 97/24 colonizaram o meio em sete dias de incubação em todos os métodos, exceto em sílica gel. O tempo de colonização das linhagens de *Lentinula edodes* LED 25, LED 27, CHICO II, *Flamulina* sp. e de *Pleurotus ostreatus* POS 09/99 e POS 09/100 foi de nove dias de incubação. As linhagens de *Lentinula edodes* LED 12, LED 20, LED 33, LED 35, LED 51, LED 55, LED 58, LED 75, LED 96/13, LED SALTO, LED JABL, LED SIII e a linhagem de *Coprinus comatus* CCO 01/01 obtiveram maior delonga no tempo de colonização (10 dias).

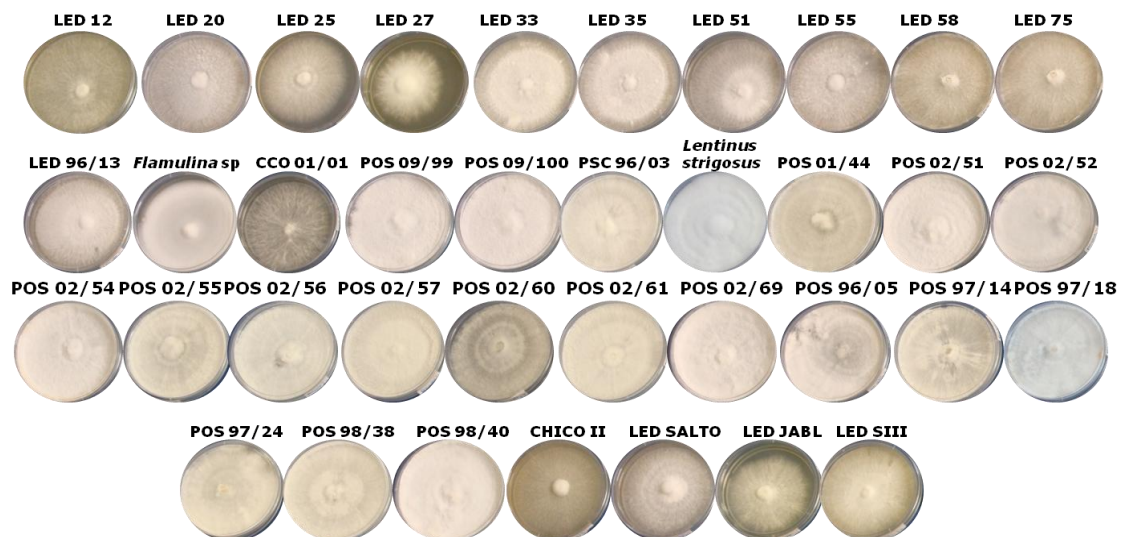


Figura 1– Linhagens fúngicas crescidas no método de preservação de Água Destilada.

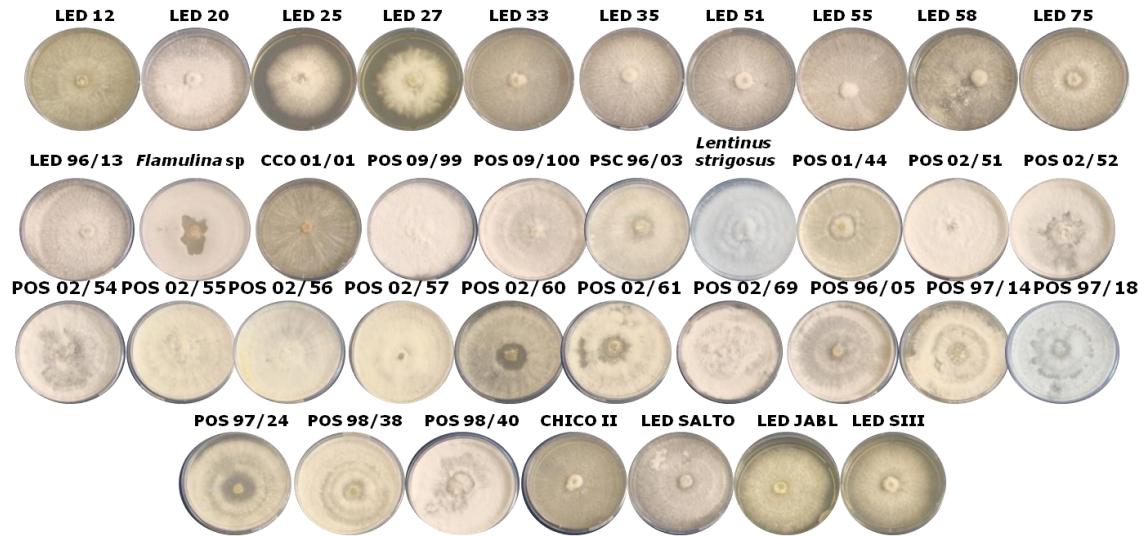


Figura 2- Linhagens fúngicas crescidas no método de preservação de Óleo Mineral.

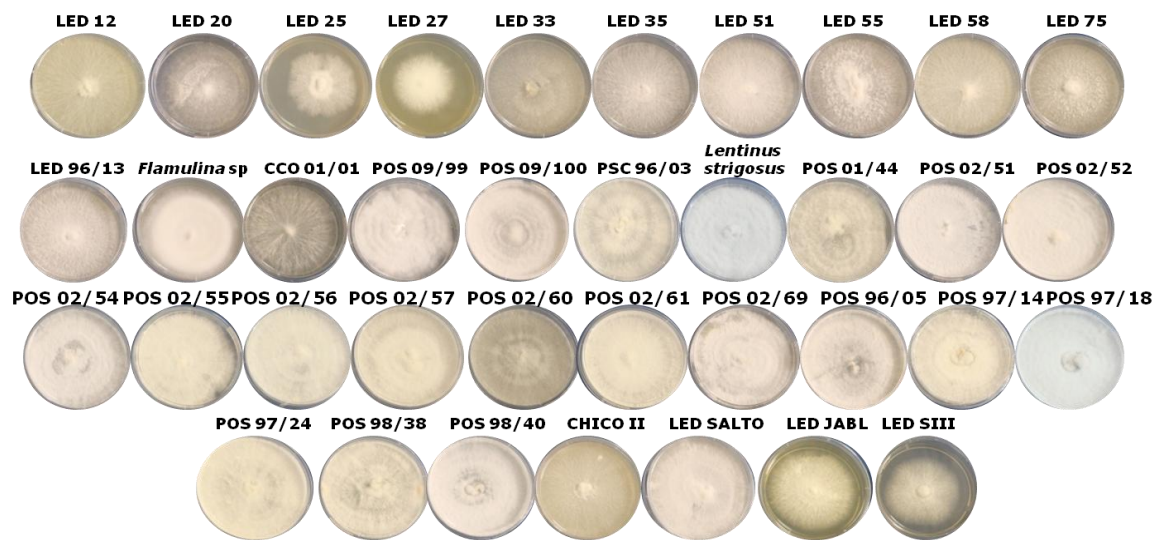


Figura 3- Linhagens fúngicas crescidas no método de preservação de Repicagem Periódica.



Figura 4- Linhagem fúngica crescida no método de preservação de Sílica Gel.

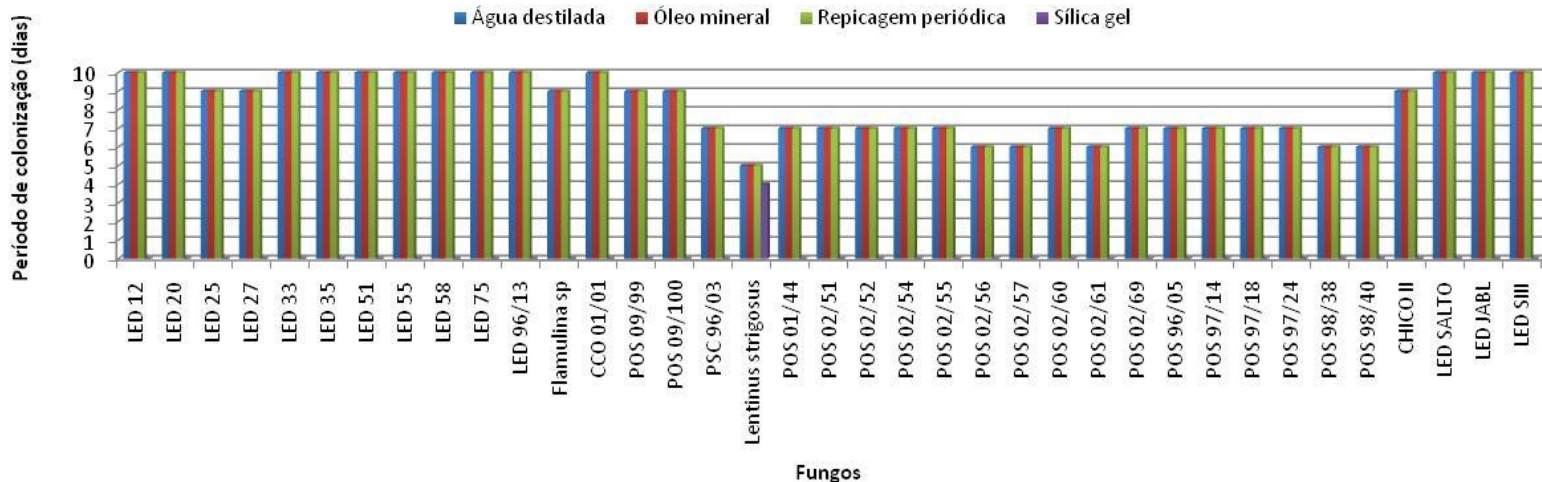


Figura 5– Eficiência dos métodos de preservação.

#### 4. Conclusão

Os métodos de preservação óleo mineral, água destilada e repicagem periódica são eficientes na conservação dos basidiomicetos do presente estudo. Apenas o método de preservação em sílica gel não foi eficiente para a preservação destes basídios, exceto a linhagem de *Lentinus strigosus*.

#### Agradecimentos

Os autores agradecem as fontes financiadoras: MCT/CNPq/INPA/Projeto CT-AMAZÔNIA/CT-ENERGIA

#### 5. Referências

- Chang, S.T.; Miles, P.G.1984. A new look at cultivated mushroom. *Bioscience*, 3 (6): 358-362.
- Dhingra, O.D.; Sinclair, J.B. 1995. *Basic plant pathology methods*. 4<sup>a</sup> ed., CRC Lewiis Publishers, Boca Raton 434pp.
- Eira, A.F.; Minihoni, M.T. A. 1997. *Manual do cultivo do "Hiratake" e "Shimeji" (Pleurotus spp)*. Botucatu: Fundação de Estudos e Pesquisas Agrícolas e Florestais-UNESP, 63p.
- Guzmán, G.; Mata, G.; Salmones, D.; Soto-Velasco, C.; Guzmán-Dávalos, L. 1993. *El cultivo de los hongos comestibles*. Instituto Politécnico Nacional, México, D. F. 245p.
- Sales-Campos, C. 2008. *Aproveitamento de resíduos madeireiros e da agroindústria regional para o cultivo de fungos comestíveis de ocorrência na região amazônica*. Tese de Doutorado, Universidade Federal do Amazonas, Manaus, Amazonas. 182 pp.
- Urban, A.F.; Oliveira, H.C.B.; Vieira, W.; Correia, M.J.; Uriartt, A.H. 2001. *Produção de cogumelos por meio de tecnologia chinesa modificada*. Brasília : Embrapa,. 151 p.