

INFLUÊNCIA DA TEMPERATURA E DO MEIO DE CULTURA NO CRESCIMENTO MICELIAL DE *Lentinula raphanica*

Ana Paula Miléo Guerra CARVALHO¹; Naiane Guedêlha SILVA²; Raquel Sousa CHAVES³; Ruby VARGAS-ISLA⁴; Noemia Kazue ISHIKAWA⁵.

1. Bolsista PIBIC/CNPq; 2. Bolsista PIBIC/CNPq; 3. Bolsista PAIC/FAPEAM; 4. Co-orientadora INPA/CBIO; 5. Orientadora INPA/CBIO.

1.Introdução

Os fungos são organismos eucarióticos, sem plasmídios, com nutrição por absorção, possuem parede celular constituída por quitina e β -glucanos, podem ser unicelulares ou filamentosos, com reprodução sexuada ou assexuada. Estão classificados em diferentes arranjos sendo atualmente aceitos os seguintes filos: *Ascomycota*, *Basidiomycota*, *Chytridiomycota*, *Glomeromycota*, *Microsporidia* e *Zygomycota* Kirk *et al.* (2008). Dentre eles o filo Basidiomycota, se caracterizam por apresentar basídios, basidiósporos e grampos de conexão, dentro deste filo está a família Marasmiaceae a qual pertence o gênero *Lentinula* que tem como seu mais conhecido representante o *L. edodes* (Pegler) o Shiitake que é um dos cogumelos mais cultivados no mundo por sua comestibilidade. Este gênero compreende sete espécies com distribuição na Ásia, Australasia e Américas segundo Capelari *et al.* (2010).

Nas Américas são encontradas as espécies de *L. raphanica* (Murrill) J.L. Mata & R.H. Petersen, *L. boryana* (Berk. & Mont.) Pegler, *L. aciculospora* J.L. Mata & R.H. Petersen e *L. guarapiensis* (Speg. Pegler). Em 2010 foi relatada a primeira ocorrência de *L. raphanica* para o estado do Amazonas Capelari *et al.*(2010) e o segundo reporte para o Brasil. O fungo *L. raphanica* é utilizado na alimentação de povos indígenas Muinanes, Uitotos e Andokes da Amazônia colombiana com propriedades similares ao *L. edodes* conforme Vasco-Palacios *et al.* (2005) . Estes relatos indicam que *L. raphanica* apresentam potencial para o cultivo nos trópicos. O conhecimento dos parâmetros físico-químicos para a manutenção do fungo *in vitro*, é a primeira etapa para o cultivo de uma espécie, pois visa avaliar as condições ótimas de crescimento do fungo, em relação aos meios de cultura, temperaturas e tempos de incubação Hatvani, (2001). Deste modo o objetivo deste trabalho foi verificar a temperatura, tempo de incubação e o meio de cultura que favorece o crescimento micelial de *L. raphanica*.

2.Material e Métodos

2.1 Fungos

Na tabela 1. São apresentadas as informações sobre os três isolados de *L. raphanica* utilizados no experimento.

Tabela 1. Isolados utilizados no experimento

Código de identificação	Código herbário ou N° coletor	Local e ano de coleta
L.R.1	NKI-24	UZF-2, 2011
L.R.2	NKI-21	UZF-2, 2011
L.R.A	INPA230870	INPA – campus III, 2007

*UZF 2- Unidade Florestal Zona Franca 2, Situada na Rodovia BR-174, Manaus/Boa Vista.

2.2 Inóculo

Um fragmento de (2x2mm) da cultura micelial estoque de cada isolados do laboratório de microbiologia de alimentos foi transferida para a placa de Petri (9 cm de diâmetro) contendo 20 mL de meio de cultura Batata Dextrose Ágar - BDA (Acumedia Manufacturs) e incubado em estufa na temperatura de 25 °C, na ausência de luz, por 12 dias. Foi retirado da borda da colônia um fragmento de (2x2mm) para ser utilizado como inóculo no experimento.

2.3 Avaliação do efeito da temperatura

Os inóculos dos isolados foram adicionados ao centro da placa de Petri (9 cm de diâmetro) com o meio BDA e incubados em estufas com diferentes temperaturas 20, 25, 30 e 35 °C, na ausência de luz, O experimento foi inteiramente casualizado, com n=4 sendo mantido os tratamentos até que a colônia de um dos isolados atingisse a borda da placa.

2.4 Efeito da composição do meio de cultura

Os inóculos dos isolados foram adicionados ao centro da placa de Petri (9 cm de diâmetro) com diferentes meios de cultura sólidos: BDA, Sabouraud dextrose Ágar (SDA) (Becton, Dickinson and Company-BD), Ágar fubá (AF) (Nissui- Tóquio) e Malte Ágar (MA) (Nissui- Tóquio), Meio Mínimo (MM), e Meio Completo (MC) de Pontecorvo *et al.* (1953). As placas foram incubadas a 25 °C em estufa, ausência de luz, o experimento foi inteiramente casualizado, com n=4 sendo mantidos os tratamentos até que a colônia de um dos isolados atingisse a borda da placa.

2.5 Critério de avaliação

O parâmetro utilizado foi o diâmetro da colônia que foi mensurado com auxílio de uma régua (cm) e a massa micelial seca que foi obtida através da técnica de derretimento do meio em microndas segundo Vargas-Isla e Ishikawa (2008) na qual consiste em adicionar água sobre o micélio, levar ao forno microondas por aproximadamente 20 segundos para o derretimento do meio, em seguida adicionar água a uma temperatura aproximadamente de 60 °C, para a separação da massa micelial do meio de cultura, após a separação, a massa micelial foi desidratada em estufa com circulação de ar forçado por 24 horas à 65 °C e por 24 horas à 105 °C até a massa micelial ficar constante.

3. Resultados e Discussão

3.1 Efeito da temperatura

O efeito de diferentes temperaturas no crescimento dos isolados de *L. raphanica* em meio BDA pode ser observado na figura 1.

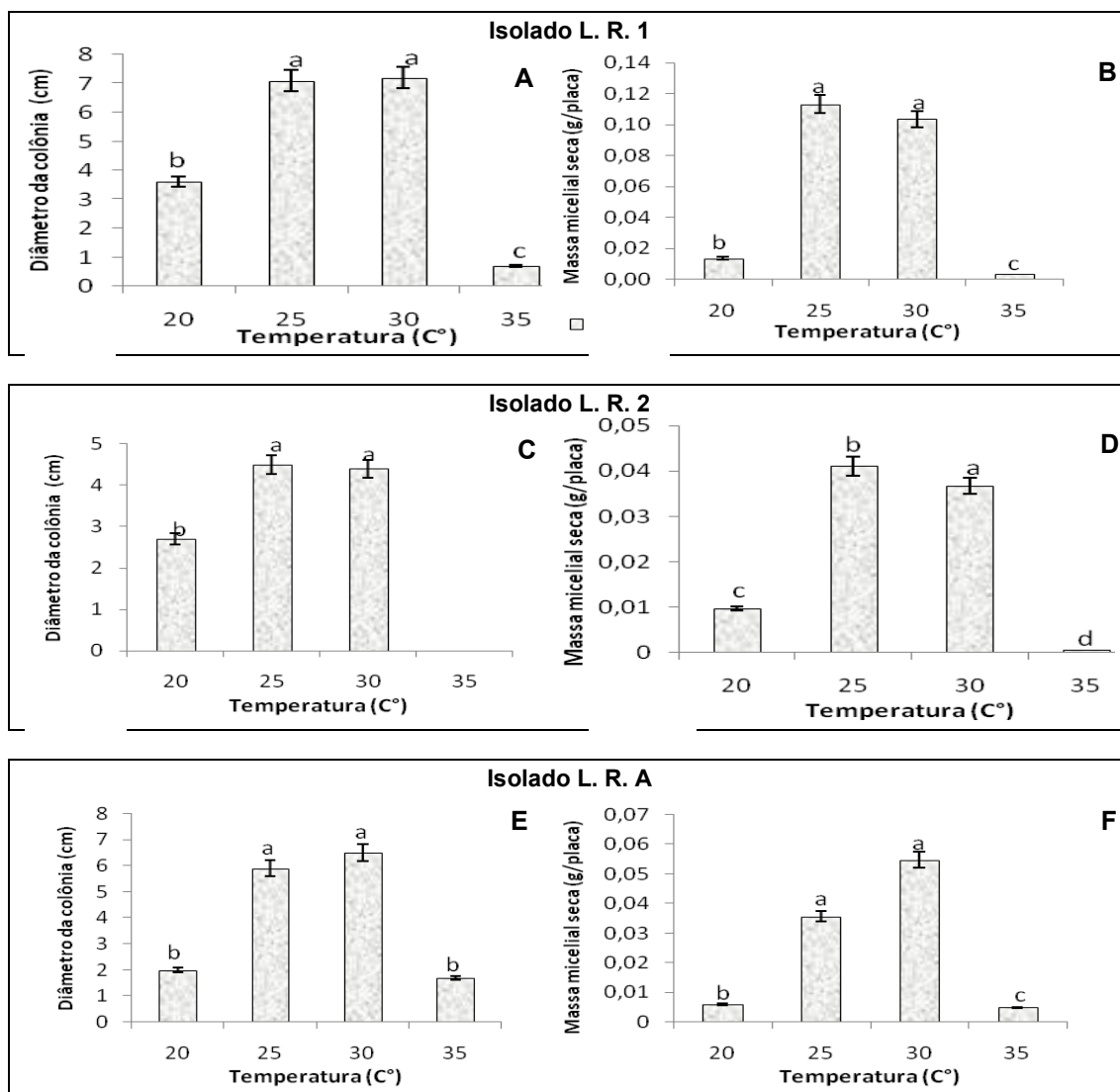


Fig. 1. Avaliação do crescimento micelial dos isolados de *Leucorhiza raphanica* em meio de cultura BDA, incubados em diferentes temperaturas. Colunas com as mesmas letras não diferem significativamente ($p < 0,01$) pelo teste de Tukey. N=4. (A, C e E) Diâmetro da colônia e (B, D e F) Massa micelial seca no nono dia de cultivo.

Com base nos resultados obtidos a partir, do diâmetro da colônia e da massa micelial seca verificou-se que a 25 e 30°C foram as melhores temperaturas para o crescimento micelial dos três isolados. Sendo possível comparar com valores encontrados por Lechner e Albertó (2007) os quais observaram que a temperatura ótima para o crescimento micelial de *L. tigrinus*, foi a 30 °C. Gbolagade *et al.* (2006) também observaram que a melhor temperatura para o crescimento micelial de, *L. subnudus*, foi a 30 °C.

3.2 Efeito da composição do meio de cultura

O crescimento micelial dos isolados de *L. raphanica* em diferentes meios de cultura incubados a 25 °C podem ser observados na tabela 2.

Tabela 2. A influência dos meios de cultura no crescimento micelial dos isolados de *Lentinula raphanica*.

Tratamentos	Diâmetro e Massa micelial seca					
	Meios	LR1	LR1	LRA	LRA	LR2
AF	5,0 d	0,0077 b	5,3 bc	0,0079 b	4,1 d	0,0061 c
BDA	7,2 b	0,0487 a	7,1 a	0,037 a	6,9 b	0,0359 b
MA	8,3 a	0,0445 ab	7,9 a	0,022 b	7,4 a	0,0229 bc
MC	6,5 c	0,0297 b	6,4 b	0,0281 a	6,2 c	0,0413b
MM	4,7d	0,0073 c	4,6 c	0,006 b	3,8 d	0,0059 c
SDA	7,4b	0,0504 a	7,8 a	0,0422 a	6,9 b	0,0703 a

Médias com a mesma letra(s) não diferem significativamente ($p < 0,01$) pelo teste de Tukey. BDA= batata dextrose ágar, Ágar fubá (AF), MA= malte ágar, MC=meio completo, MM= meio mínimo e SDA= Sabouraud dextrose ágar. CV= 2,20%

O meio de cultura que apresentou maior crescimento da colônia em diâmetro para os três isolados foi o meio MA, no entanto, a maior produção de biomassa foi observada no meio de cultura SDA para os três isolados obtendo resultado semelhante a Vargas-Islas e Ishikawa (2008).

4. Conclusão

A temperatura ótima de incubação para os três isolados testados de *Lentinula raphanica* está na faixa entre 25 a 30 °C e o meio de cultura que proporciona maior produção de biomassa é o SDA para os três isolados.

5. Referências Bibliográficas

- Capelari, M.; Asai, T.; Ishikawa, N.K. 2010. Occurrence of *Lentinula raphanica* in Amazonas State, Brazil. *Mycotaxon*, 113: 355-364.
- Gbolagade, J. S.; Fasid, I. O.; Ajayi, E. J.; Sobowale, A. A. 2006. Effect of physico-chemical factors and semi-synthetic media on vegetative of *Lentinus subnudus* (Berk.), and edible mushroom from Nigeria. *Food Chemistry*, 99:742-747.
- Kirk, P.M.; Cannon, P.F.; Minter, D.W.; Stalpers, J.A. 2008. *Dictionary of the fungi*. CAB International, Wallingford. pp 905.
- Lechner, B. E.; Albertó, E. 2007. Optimal conditions for the fruit body production of natural occurring strains of *Lentins tigrinus*. *Bioresource Technology*, 98:1866-1869.
- Mswaka, A.Y.; Magan, N. 1999. Temperature and water potential relations of tropical trametes and other Wood-decay fungi from the indigenous forests of Zimbabwe. *Mycological Research*, 103:1309-1317.
- Vargas-Isla, R.; Ishikawa, N.K. 2008. Optimal conditions of in vitro micelial growth of *Lentinus strigosus*, an edible mushroom isolated in the Brazilian Amazon. *Mycoscience*, 49: 215-219.
- Vasco-Palacio, A.; Franco-Molano, A. E.; López-Quintero, C.A.; Boekhout, T. 2005. Macromicetes (*Ascomycota*, *Basidiomycota*) de la región del medio Caquetá, departamentos de Caquetá y Amazonas (Colômbia). *Biota Colombiana* 6: 127–140.