



UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE EDUCAÇÃO E SAÚDE
UNIDADE ACADÊMICA DE SAÚDE
CURSO BACHARELADO EM FARMÁCIA

GESSYMARA CAINÃ SALES DA SILVA

**AVALIAÇÃO DA POTENCIAL ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DE
EXTRATOS DE SUBSTRATOS GASTOS DE COGUMELOS *Pleurotus*
spp. SOBRE *Aspergillus flavus***

CUITÉ – PB

2023

GESSYMARA CAINÃ SALES DA SILVA

**AVALIAÇÃO DA POTENCIAL ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DE
EXTRATOS DE SUBSTRATOS GASTOS DE COGUMELOS *Pleurotus*
spp. SOBRE *Aspergillus flavus***

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à
Coordenação do Curso de Bacharelado em Farmácia do
Centro de Educação e Saúde da Universidade Federal
de Campina Grande – Campus Cuité, como requisito
obrigatório para obtenção do grau de Bacharel em
Farmácia.

Orientador: Prof. Dr. Fillipe de Oliveira Pereira.

CUITÉ-PB

2023

S586a Silva, Gessymara Cainã Sales da.

Avaliação da potencial atividade antifúngica de extratos de substratos gastos de cogumelo *Pleurotus* spp. sobre *Aspergillus flavus*. / Gessymara Cainã Sales da Silva. - Cuité, 2023.
49 f.: il. color.

Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Farmácia) - Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Educação e Saúde, 2023.

"Orientação: Prof. Dr. Fillipe de Oliveira Pereira".

Referências.

1. Cogumelo. 2. Cogumelo comestível. 3. Resíduos agrícolas. 4. *Pleurotus*. 5. *Aspergillus flavus*. 6. *Spent mushroom substrate*. 7. Cogumelo – cultivo. 8. Cogumelo – potencial antifúngico. 9. Shimeji. I. Pereira, Fillipe de Oliveira. II. Título.

CDU 635.82(043)



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
UNIDADE ACADEMICA DE SAUDE - CES
Sítio Olho D'água da Bica, - Bairro Zona Rural, Cuité/PB, CEP 58175-000
Telefone: (83) 3372-1900 - Email: uas.ces@setor.ufcg.edu.br

REGISTRO DE PRESENÇA E ASSINATURAS

GESSYMARA CAINÃ SALES DA SILVA

**AValiação da POTENCIAL ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DE EXTRATOS DE SUBSTRATOS
GASTOS DE COGUMELOS *Pleurotus* spp. SOBRE *Aspergillus flavus***

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Bacharelado em Farmácia da Universidade Federal de Campina Grande, como parte dos requisitos para obtenção do título de Bacharel em Farmácia.

Aprovado em: 05/10/2023.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Fillipe de Oliveira Pereira
Orientador(a)

Prof. Dr. Egberto Santos Carmo
Avaliador(a)

Prof^ª. Dr^ª Francinalva Dantas de Medeiros
Avaliador(a)



Documento assinado eletronicamente por **FILLIPE DE OLIVEIRA PEREIRA, PROFESSOR 3 GRAU**, em 06/10/2023, às 11:49, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 8º, caput, da [Portaria SEI nº 002, de 25 de outubro de 2018](#).



Documento assinado eletronicamente por **EGBERTO SANTOS CARMO, PROFESSOR(A) DO MAGISTERIO SUPERIOR**, em 11/10/2023, às 08:49, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 8º, caput, da [Portaria SEI nº 002, de 25 de outubro de 2018](#).



Documento assinado eletronicamente por **FRANCINALVA DANTAS DE MEDEIROS, PROFESSOR 3 GRAU**, em 11/10/2023, às 09:31, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 8º, caput, da [Portaria SEI nº 002, de 25 de outubro de 2018](#).

A autenticidade deste documento pode ser conferida no site <https://sei.ufcg.edu.br/autenticidade>, informando o código verificador **3856470** e o código CRC **1CF3BD10**.

Referência: Processo nº 23096.072080/2023-83 SEI nº 3856470

Dedico a conclusão deste curso a todos
que contribuíram de forma direta ou
indireta na realização deste sonho.
Em especial, dedico ao meu avô,
José Laurentino (*In memoriam*).
Sua alegria está viva em mim, vovô!

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar e especialmente, sou grata a Deus pela força e coragem que me deu para cumprir os Seus sonhos em minha vida. Gratidão por exatamente tudo. Sem Ele nada faria sentido e não valeria a pena. Grata a Nossa Senhora por proteger e iluminar este caminho, regado de aprendizados e lições. Ao príncipe da milícia celeste, São Miguel Arcanjo, sou grata por ser meu anjo guardião em todas as minhas voltas por este mundo.

Gratidão a minha família por me ajudar na realização deste sonho. Em especial, agradeço a minha mãe, Geane Maria da Silva, por todo esforço e apoio quando decidi alçar novos voos. Sem esta ajuda, eu não estaria trilhando os caminhos de ser a primeira pessoa da família a concluir o ensino superior.

À família construída longe de casa: eu não tenho palavras para agradecer por tê-los em minha vida. Mudaram as estações, mas nada mudou. Vocês significam muito nesta minha trajetória: Alice Alide, Beatriz Maria, Bianca Taveira, Emanuel Pereira, Gleddyson César, Hellen Mayara, Julihermes Macêdo, Livia Gouveia, Raylane Bezerra e José Wyllkee. Que Deus derrame chuva de prosperidade no caminho de todos. Estarei sempre aqui para vocês. Gratidão.

Em especial, ao amigo companheiro desta pesquisa, de curso e de vida, muitíssimo obrigada pela paciência, partilhas, confidências, risadas e pelo apoio construído durante a graduação. Emanuel Pereira, que seu caminhar seja sempre de muitas bênçãos e pessoas de bom coração por perto, assim como você é. Você merece um infinito de coisas boas.

Em nome daquela que Deus me presenteou como irmã, Cecília Helena, agradeço a todos os amigos que de forma direta ou indireta fizeram parte deste caminho. Sem dúvidas, vocês me ajudaram a tornar a carga do dia a dia mais leve. Sou grata por isso e por tudo.

Aos meus colegas de sala de aula, gratidão por compartilhar de tantos momentos com vocês: aflições, alegrias, medos e superações. Farmácia 2019.1, sou grata pelas amizades construídas, espero levá-los para a vida.

Aqueles que o IFRN generosamente me apresentou e foram importantes no início desta jornada, prof. Me. André Bezerra, prof. Dr. Eugênio Ribeiro e prof^a. Dr^a Luciana Rabêlo, meu muitíssimo obrigada por todo apoio, conselhos e direcionamentos. Vocês também fazem parte dessa história.

Aos meus queridos professores, construtores de sonhos, sou grata pelos ensinamentos, paciência e generosidade na transmissão de conhecimentos e colaboração em minha formação acadêmica. De modo especial, destaco minha gratidão aos professores Dr. Egberto Santos

Carmo, Dr. Fillipe de Oliveira Pereira, Dr^a. Vanessa Santos de Arruda Barbosa e Dr^a. Yonara Monique da Costa Oliveira pelas oportunidades e ensinamentos que a mim foram dados.

Aos colegas do grupo de pesquisa FUNGI, gratidão pelo apoio, pela troca de conhecimento e pelos momentos descontraídos no laboratório. Em especial, agradeço aos que contribuíram diretamente na realização desta pesquisa: Emanuel Pereira, Livia Soares e Wesley Moraes.

Ao meu orientador, Dr. Fillipe de Oliveira Pereira, agradeço muitíssimo pela oportunidade de participar do FUNGI, pelos ensinamentos e pela dedicação na realização deste trabalho. Meus sinceros agradecimentos por exatamente tudo.

À banca examinadora deste Trabalho de Conclusão de Curso, Prof. Dr. Egberto Santos Carmo e Prof^a. Dr^a. Francinalva Dantas de Medeiros, obrigada por aceitarem fazer parte deste momento e contribuírem significativamente com correções e sugestões valiosas.

Agradeço aos responsáveis pelo Laboratório de Bioquímica, Microbiologia e Farmacognosia do Centro de Educação e Saúde (UFCEG) pela disponibilidade para a utilização dos mesmos no desenvolvimento desta pesquisa. Além disso, agradeço também o apoio e a colaboração do Grupo de Pesquisa e Produção de Cogumelos Comestíveis da UFPA (GPEC-Campus Areia-PB) na realização deste estudo.

Ao Centro de Educação e Saúde (CES) da Universidade Federal de Campina Grande (UFCEG) que me proporcionou estudo gratuito e de qualidade, meu muitíssimo obrigada! Se aproxima a hora de partir e, como disse Belchior na canção “Tudo outra vez”, vou viver as coisas novas que também são boas: o amor e humor das praças cheias de pessoas. Agora eu quero tudo, tudo outra vez.

Finalizo meus agradecimentos parafraseando Raul Seixas, sonho que se sonha só é só um sonho que se sonha só, mas sonho que se sonha junto é realidade. Gratidão imensurável a todos que fizeram parte desta trajetória. Esta conquista não é só minha, é de todos que estiveram ao meu lado durante esses 5 anos. Que Deus abençoe imensamente a vida de todos.

*“Nada te perturbe, nada te espante,
Tudo passa, Deus não muda,
A paciência tudo alcança;
Quem a Deus tem, nada lhe falta:
Só Deus basta.”*
- Santa Tereza D’Ávila

RESUMO

O cultivo de cogumelos comestíveis vem ganhando destaque devido as suas propriedades nutricionais e medicinais. O gênero *Pleurotus* se destaca porque possui habilidades de degradar resíduos lignocelulósicos muito comuns em resíduos agrícolas. O material resultante do cultivo de cogumelos é conhecido por substrato gasto ou *Spent Mushroom Substrate* (SMS), o qual pode ser útil do ponto de vista biotecnológico. A busca por produtos antifúngicos para o controle de *Aspergillus flavus* e o reaproveitamento do SMS representa uma associação biotecnológica que ainda não foi devidamente explorada. Assim, objetivou-se produzir, caracterizar quimicamente e avaliar o potencial antifúngico de extratos do substrato gasto em 100% de folhas de bananeiras resultante do cultivo de cogumelos *P. djamor* (SGPd) e *P. ostreatus* (SGPo). Os extratos hidroalcóolicos de SGPd e SGPo foram produzidos com 2g do substrato com 50 mL de solução etanol/água (70:30 v/v). A composição de produtos naturais dos extratos foi realizada para detectar fenólicos e flavonoides totais. A atividade antifúngica foi realizada contra cepas produtoras de micotoxinas oriundas da micoteca “*Colección de Cultivos de Microorganismos de la Universidad Nacional de Asunción*” – Paraguai. Determinou-se a menor CIM, CFM, relação CIM/CFM, inibição da germinação de conídios em caldo e crescimento micelial em meio sólido (crescimento radial). Utilizou-se o Carboxin (CBX) como controle positivo. Os valores de fenólicos totais nos extratos variaram de 12,04 µg EAG/mL a 24,60 µg EAG/mL, respectivamente em SGPd e SGPo. Quanto aos flavonoides totais, os resultados de SGPd e SGPo obtidos variaram de 5,67 µg EQ/mL a 6,55 µg EQ/mL, respectivamente. As drogas em estudo apresentaram atividade antifúngica contra *A. flavus*, evidenciando efeitos a partir de 1024 µg/mL. O SGPo se mostrou mais promissor, visto que, das 6 cepas testadas, 5 foram inibidas em 1024 µg/mL. SGPd, SGPo e CBX inibiram a germinação dos conídios de *Aspergillus* 35 ($p < 0,05$). Considerando o tempo e as diferenças de eficácia das drogas-teste, SGPd, SGPo e CBX foram capazes de reduzir o crescimento micelial das cepas AS35 e *Aspergillus* 118. Portanto, o uso do SGPd e SGPo para controle do crescimento de fungos e na conservação de alimentos é uma alternativa sustentável promissora. No presente trabalho, SGPd e SGPo revelaram seu potencial antifúngico frente as cepas de *A. flavus* testadas.

Palavras-chave: shimeji; resíduos agrícolas; *spent mushroom substrate*; antifúngico.

ABSTRACT

The cultivation of edible mushrooms has gained prominence due to their nutritional and medicinal properties. The genus *Pleurotus* stands out because it has the ability to degrade lignocellulosic residues that are very common in agricultural waste. The material resulting from mushroom cultivation is known as spent post-mushroom cultivation substrate or Spent Mushroom Substrate (SMS), which can be useful from a biotechnological point of view. The search for antifungal products to control *Aspergillus flavus* and the reuse of SMS represents a biotechnological association that has not yet been properly explored. Thus, the objective was to produce, chemically characterize and evaluate the antifungal potential of extracts from the substrate spent on 100% banana leaves resulting from the cultivation of *P. djamor* (SGPd) and *P. ostreatus* (SGPo) mushrooms. The hydroalcoholic extracts of SGPd and SGPo were produced with 2g of substrate with 50 mL of ethanol/water solution (70:30 v/v). Natural product composition of the extracts was performed to detect total phenolics and flavonoids. The antifungal activity was carried out against mycotoxin-producing strains from the mycotheque “Colección de Cultivos de Microorganismos de la Universidad Nacional de Asunción” – Paraguay. The lowest MIC, CFM, MIC/CFM ratio, inhibition of conidial germination in broth and mycelial growth on solid media (radial growth) were determined. Carboxin (CBX) was used as a positive control. Total phenolic values in the extracts ranged from 12.04 µg EAG/mL to 24.60 µg EAG/mL, respectively in SGPd and SGPo. As for total flavonoids, the SGPd and SGPo results obtained ranged from 5.67 µg EQ/mL to 6.55 µg EQ/mL, respectively. The drugs under study showed antifungal activity against *A. flavus*, showing effects from 1024 µg/mL. The SGPo proved to be more promising, since, of the 6 strains tested, 5 were inhibited at 1024 µg/mL. SGPd, SGPo and CBX inhibited the germination of AS35 conidia ($p < 0.05$). Considering the time and differences in efficacy of the test drugs, SGPd, SGPo and CBX were able to reduce the mycelial growth of strains AS35 and AS118. Therefore, the use of SGPd and SGPo to control fungal growth and food preservation is a promising sustainable alternative. In the present work, SGPd and SGPo revealed their antifungal potential against the *A. flavus* strains tested.

Key words: *shimeji*; agricultural waste; *spent mushroom substrate*; antifungal.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** Representação de *Pleurotus* spp. cultivadas em SMS. a) Cultivo de *Pleurotus ostreatus* (ou cogumelo ostra) b) *Pleurotus djamor* (cogumelo ostra rosa)
- Figura 2** Cultivo de *Pleurotus djamor* em substrato vegetal (folhas de bananeira, farelo de trigo e serragem de madeira)
- Figura 3** Substrato Gasto de *Pleurotus ostreatus* cultivados em restolhos da plantação de milho
- Figura 4** Processo da utilização de resíduos lignocelulósicos pela indústria de cogumelos e seu potencial de reutilização
- Figura 5** Representação morfológica do *Aspergillus flavus*. a) Colônia granulosa de cor verde b) Hifas hialinas, ramificadas e septadas e hifas reprodutivas (aumento 400x)
- Figura 6** Fórmula estrutural da Aflatoxina B1
- Figura 7** Estrutura química do Carboxin
- Figura 8** Teor de fenólicos totais dos extratos hidroalcóolicos de SGPd e SGPo
- Figura 9** Teor de flavonoides totais dos extratos hidroalcóolicos de SGPd e SGPo
- Figura 10** Percentual de conídios germinados de *Aspergillus flavus* AS35 na ausência (controle) e na presença de SGPd (CIM 1024 µg/mL), SGPo (CIM 1024 µg/mL) e CBX (CIM 32 µg/mL)
- Figura 11** Percentual de conídios germinados de *Aspergillus flavus* AS118 na ausência (controle) e na presença de SGPd (CIM 2048 µg/mL), SGPo (CIM 2048 µg/mL) e CBX (CIM 512 µg/mL)
- Figura 12** Crescimento micelial radial (mm) da cepa *Aspergillus flavus* AS35 na presença e ausência das drogas-teste (SGPd, SGPo e CBX)
- Figura 13** Crescimento micelial radial (mm) da cepa *Aspergillus flavus* AS118 na presença e ausência das drogas-teste (SGPd, SGPo e CBX)

LISTA DE TABELA

Tabela 1 Concentração inibitória mínima e concentração fungicida mínima (g/L) dos extratos de SGPd, SGPo e CBX contra cepas de *Aspergillus flavus*

LISTA DE SIGLAS, ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

%	Percentual
®	Marca registrada
°C	Grau Célsius
µg/mL	Micrograma por mililitro
µL	Microlitro
ASG	Ágar Sabouraud Glicose
CBX	Carboxin
CES	Centro de Educação e Saúde
CFM	Concentração Fungicida Mínima
CIM	Concentração Inibitória Mínima
DMSO	Dimetilsulfóxido
DP	Desvio Padrão
EAG	Equivalentes de Ácido gálico
EAG/µl	Equivalentes de Ácido Gálico por microlitros
EC	Economia Circular
EQ	Equivalentes de Quercetina
EQ/µl	Equivalentes de Quercetina por microlitros
g	Gramas
GPEC	Grupo de Pesquisa e Produção de Cogumelos Comestíveis da UFPB
h	Horas
Kg	Quilograma
mL	Mililitro
mm	Milímetro
nm	Nanômetro
Nº	Número
RPMI	<i>Roswell Park Memorial Institute</i> – meio de cultura
SDH	Succinato Desidrogenase
SDHI	Inibidores da Succinato Desidrogenase
SG	Substrato Gasto
SGPd	Substrato Gastos de <i>Pleurotus djamor</i>
SGPo	Substrato Gasto de <i>Pleurotus ostreatus</i>

SMS	<i>Spent Mushroom Substrate</i>
spp.	Espécies do gênero
UAS	Unidade Acadêmica de Saúde
UFC	Unidade Formadora de Colônia
UFC/mL	Unidade Formadora de Colônia por mililitro
UFCG	Universidade Federal de Campina Grande
UFPB	Universidade Federal da Paraíba
UR	Umidade Relativa
v/v	Volume por volume

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	14
2 OBJETIVOS	16
2.1 Objetivo geral	16
2.2 Objetivos específicos	16
3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	17
3.1 Cogumelos comestíveis e <i>Pleurotus</i> spp.	17
3.2 Substrato Gasto de cogumelo e aplicações biotecnológicas.....	20
3.3 <i>Aspergillus flavus</i>	23
4 METODOLOGIA.....	26
4.1 Obtenção do Substrato Gasto.....	26
4.2 Obtenção dos extratos do Substrato Gasto	26
4.3 Prospecção química dos extratos	26
4.4 Atividade antifúngica.....	27
4.4.1 Inóculo	27
4.4.2 Concentração Inibitória Mínima (CIM).....	27
4.4.3 Concentração Fungicida Mínima (CFM).....	28
4.4.4 Germinação de conídios.....	28
4.4.5 Crescimento micelial	28
4.5 Carboxin	29
4.6 Análise estatística	29
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	29
6 CONCLUSÃO.....	41
REFERÊNCIAS.....	42

1 INTRODUÇÃO

A produção de cogumelos comestíveis tem aumentado globalmente, inclusive no Brasil. Estima-se que a produção anual de cogumelos comestíveis no país esteja em torno de 15.696 toneladas, com o gênero *Pleurotus* spp. ocupando posição de destaque entre os principais cultivados (Royse; Baars; Tan, 2017; Sánchez *et al.*, 2018). Estes cogumelos possuem habilidades de degradar substratos lignocelulósicos muito comuns em resíduos agrícolas, como as folhas de bananeira e bagaço de cana-de-açúcar (Raman *et al.*, 2021).

Apesar da geração de produtos com alto valor nutricional e medicinal, o crescimento da cadeia produtiva de cogumelos resulta também na geração de grandes quantidades de substrato gasto pós-cultivo de cogumelos, do inglês *Spent Mushroom Substrate* (SMS), que é um resíduo de origem vegetal, colonizado e degradado pelo micélio do fungo cultivado. Em média, para cada 1kg de cogumelo produzido, 5kg de substrato gasto pós-cultivo de cogumelos são gerados. Assim, um dos maiores desafios da produção de cogumelos consiste no descarte desse grande volume de resíduo, pois envolve alto custo e requer um local de descarte apropriado, uma vez que o destino inadequado pode ocasionar sérios problemas ambientais, como contaminação do solo e poluição do ar e da água, representando uma ameaça assoladora ao planeta (Fujita *et al.*, 2021; Ahmad Zikil *et al.*, 2022).

Para mitigar isso, é imperativo agregar valor ao substrato gasto pós-cultivo. À vista disso, torna-se promissor analisar quimicamente a composição do substrato pós-cultivo de outros cogumelos comestíveis (como o *Pleurotus*) e verificar seu potencial antifúngico, a fim de suprir a constante demanda por novos produtos para o controle de fungos deteriorantes de alimentos, uma vez que contaminações em *commodities* agrícolas está cada vez mais preocupante (Hu *et al.*, 2021).

Para além da agricultura, esse problema se expande ao setor saúde, tendo em vista que alimentos contaminados com fungos podem causar sérios danos à saúde humana devido à produção de micotoxinas por determinadas espécies. *Aspergillus flavus* é uma das mais reconhecidas produtoras de micotoxinas altamente toxigênicas, a exemplo da aflatoxina B1, que possui efeitos carcinogênicos, mutagênicos, hepatotóxicos e imunossupressores (Oliveira *et al.*, 2020).

Diante disso, o uso de antifúngicos sintéticos tem contribuído na inibição desse microrganismo, a exemplo do Carboxin, diante de cenários de infecções fúngicas na produção de alimentos. No entanto, muitos autores têm relatado alta incidência de resistência fúngica frente a estes antimicrobianos e consequentes reflexos na saúde populacional (Abbaszadeh *et al.*, 2014; Cowen *et al.*, 2015).

Nesse contexto, a busca por produtos alternativos, econômicos e sustentáveis para o controle de *A. flavus* aliado a necessidade de reaproveitamento do grande volume do substrato gasto pós-cultivo gerado pela produção de cogumelos *Pleurotus*, representa uma associação biotecnológica em potencial, a qual ainda não foi devidamente explorada, justificando a relevância desse projeto.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Produzir, caracterizar quimicamente e avaliar o potencial antifúngico de extratos do substrato gasto em 100% de folhas de bananeiras resultante do cultivo de cogumelos *P. djamor* e *P. ostreatus*.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Obter os extratos hidroalcoólicos das amostras do substrato gasto de *P. djamor* e *P. ostreatus* cultivados em substratos com teor de 100% folhas de bananeiras;
- Identificar qualitativamente e estimar quantitativamente as classes de metabólitos secundários presentes nos extratos; e
- Avaliar a atividade antifúngica dos extratos contra *A. flavus* sobre o crescimento fúngico e germinação de conídios.

3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1 COGUMELOS COMESTÍVEIS E *Pleurotus* spp.

Cogumelos são classificados como macrofungos dos quais possuem corpos de frutificação, ou esporocarpos, consideravelmente grandes, podendo ser vistos a olho nu e colhidos à mão (El Sheikha; Hu, 2018). Há uma variedade de formas, de modo que os esporocarpos podem ser originados acima do solo (*Agaricus* spp.) e abaixo do solo (*Tuber* spp.). O consumo de cogumelos teve início pela sociedade da pré-história. Desse modo, eles eram usados como alimentos, como uso terapêutico e em cerimônias religiosas (Li; Castañeda-Ruiz; Lamondia, 2016; O'Regan; Lamb; Wilkinson, 2016).

Os cogumelos são comumente utilizados para fins medicinal e alimentar, os quais podem ser colhidos na natureza ou cultivados. Mundialmente, mais de 200 espécies de cogumelos são utilizadas como alimentos (Atallah *et al.*, 2021). Na atualidade, o cultivo de cogumelos comestíveis está em expansão em todo o mundo. Segundo as estatísticas, a produção global de fungos comestíveis aumentou mais de 30 vezes entre 1978 e 2013. A produção global em 2018 foi de aproximadamente 12,74 milhões de toneladas e está projetado para atingir 20,84 milhões de toneladas até 2026 (Royse; Baars; Tan, 2017; Atallah *et al.*, 2021).

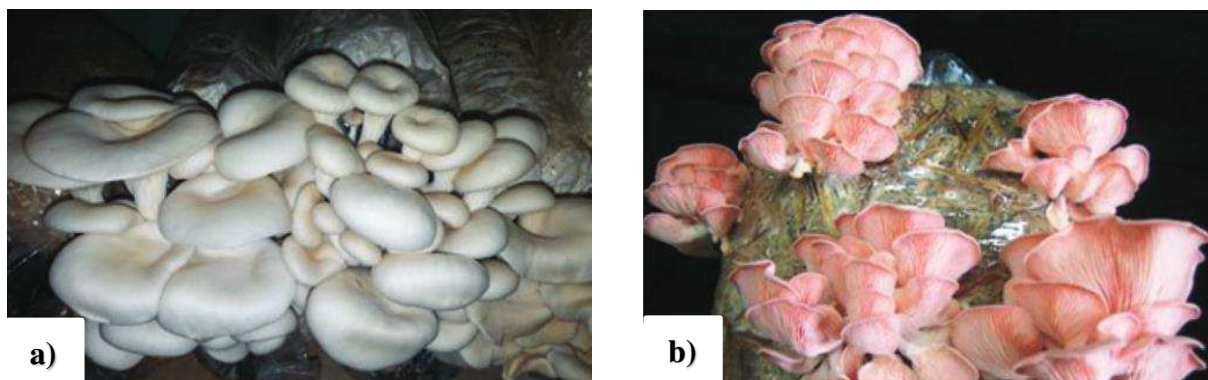
De modo paralelo, o contexto de produção de cogumelos no Brasil vem se estruturando e tomando espaço. Estima-se que a cadeia produtiva anual de cogumelos comestíveis no país esteja em torno de 15.696 toneladas, sendo 33% do total produzido pertencente a *Agaricus bisporus*, 13% por *Lentinula edodes* e 6% por cogumelos exóticos, como *A. subrufescens* (Sánchez *et al.*, 2018). Além dessas espécies, tanto mundialmente, quanto em termos de Brasil, o gênero *Pleurotus* spp. ocupa posição de destaque entre os principais cogumelos cultivados, representando mais de 48% e 19% da produção nacional e mundial, respectivamente (Royse, Baars, Tan, 2017; Sánchez *et al.*, 2018).

Pleurotus spp. são fungos saprófitos, produzem micélio branco, não apresentam esporo, são comestíveis e dispõem de vários efeitos biológicos, uma vez que são constituídos por moléculas bioativas importantes (Bellettini *et al.*, 2019; Raman *et al.*, 2021). O sucesso do cultivo desse gênero está diretamente ligado à versatilidade de substratos que podem ser utilizados para o seu cultivo, podendo ser realizado em uma grande variedade de resíduos agrícolas (Zárate-Salazar *et al.*, 2020).

Diversos tipos de *Pleurotus* são cultivados em substratos lignocelulósicos não compostados, incluindo *P. ostreatus* (cogumelo ostra) e *P. djamor* (cogumelo ostra rosa) (Figura 1). Os cogumelos produzem enzimas lignocelulósicas e degradam os substratos

lignocelulósicos, pois cliva celulose, hemicelulose e lignina. Assim, extrai os nutrientes do substrato por meio do seu micélio adquirindo as substâncias indispensáveis para o seu desenvolvimento (como vitaminas, minerais, carbono e nitrogênio) e produção de corpos frutíferos (Loss *et al.*, 2009; Bellettini *et al.*, 2019; Kumla *et al.*, 2020).

Figura 1- Representação de *Pleurotus* spp. cultivadas em SMS. a) Cultivo de *Pleurotus ostreatus* (ou cogumelo ostra) b) *Pleurotus djamor* (cogumelo ostra rosa).



Fonte: Adaptado de Raman, 2021.

Pleurotus é um fungo com ampla diversidade relacionada à efeitos medicinais e composição da estrutura química. Além disso, o alto rendimento, a capacidade de crescimento em uma ampla variedade de materiais orgânicos, o elevado aproveitamento do substrato, o menor tempo de crescimento quando comparado a outros cogumelos comestíveis são importantes diferenciais para o aumento da produção deste gênero. Desse modo, possui relevante valor econômico e interesse comercial crescente pelo cultivo (Iossi *et al.*, 2018; Bellettini *et al.*, 2019; Sharma; Sharma; Tripathi, 2021).

Cogumelos comestíveis são uma fonte abundante de nutrientes, como alto teor de proteínas, carboidratos, vitaminas e minerais. São constituídos por compostos fenólicos, terpenos, esteróides e polissacarídeos, os quais são biomoléculas que apresentam inúmeras atividades biológicas. À vista disso, o consumo de cogumelos pode contribuir para a promoção de saúde, mediante compostos com atividade antifúngica, antigenotoxicidade, antiproliferativa, antioxidante, entre outras propriedades biológicas (Loss *et al.*, 2009; Bellettini *et al.*, 2019)

A nível global, o cultivo de *Pleurotus* spp. representa 27% da produção de cogumelos comestíveis. Em vista disso, são produzidos anualmente cerca de 998 milhões de toneladas de resíduos agrícolas, incluindo trigo, palhas de cereais, folhas de bananeira e bagaços de cana-de-açúcar. Desse modo, a utilização de resíduos lignocelulósicos para o cultivo do *Pleurotus* spp. corresponde a um processo de reciclagem orgânica mais viável e econômica (Kalmis *et al.*, 2008; Raman *et al.*, 2021).

No Brasil, a produção de cogumelos comestíveis utiliza uma variedade de substratos derivados de resíduos agrícolas, cuja escolha provém do acesso e quantidade de resíduo agrícola produzido na região. Comumente, no Brasil, se utilizam os seguintes resíduos para o cultivo de cogumelos: folhas de bananeira (Carvalho *et al.*, 2012), palhas de arroz e milho (Zárate-Salazar *et al.*, 2020), casca de eucalipto e serragem de peroba do norte (*Goupia glabra*) (Viriato *et al.*, 2022), capim *decumbens*, capim *brizantha* e palha de cana-de-açúcar (Vieira; Andrade, 2016) e até resíduos urbanos como a borra de café (Carrasco-Cabrera; Bell; Kertesz, 2019).

O cultivo de *Pleurotus* spp. se dá em diversos tipos de resíduos agrícolas. Segundo dados do IBGE (2017), o estado da Paraíba produz 39.015 toneladas de bananas por ano e, consequentemente, acarreta na elevada geração de resíduos agrícolas, com destaque para a cidade de Areia. Desse modo, o estado apresenta um ótimo recurso para o desenvolvimento econômico sustentável na utilização dos resíduos agrícolas para o cultivo de cogumelos comestíveis.

O crescimento de *Pleurotus* spp. é desencadeado pela sua atividade de secretar enzimas extracelulares que digerem os materiais orgânicos circundantes para obter sua nutrição. Posto isso, a não especificidade destas enzimas pode elucidar o potencial de biodegradar um amplo espectro de resíduos ambientais. Contudo, é imprescindível conhecer as propriedades físicas, químicas, biológicas e enzimáticas deste gênero de cogumelo (Kalmis *et al.*, 2008; Bellettini *et al.*, 2019; Raman *et al.*, 2021).

Embora o gênero *Pleurotus* spp. não requeira condições ambientais de controle específico, são necessários diversos fatores ambientais para o cultivo correto, sendo: temperatura, umidade, luminosidade, ar circundante no substrato e nutrientes os principais. Assim, o entendimento e a consequente otimização do cultivo de cogumelos trazem elevada produção e baixo custo. Com isso, vê-se que o aproveitamento dos resíduos de produção agrícola pode contribuir para aliviar o impacto ecológico (Mintesnot; Ayalew; Kebede, 2014; Bellettini *et al.*, 2019; Raman *et al.*, 2021).

Portanto, a fim de evitar que os resíduos agrícolas contaminem o meio ambiente, o cultivo de cogumelos mediante utilização da biomassa vegetal pode favorecer ao crescimento econômico e resgate do ecossistema florestal (Obodai; Cleland-Okine; Vowotor, 2003; Mintesnot; Ayalew; Kebede, 2014; Raman *et al.*, 2021).

3.2 SUBSTRATO GASTO DE COGUMELO E APLICAÇÕES BIOTECNOLÓGICAS

O avanço da indústria mundial de cogumelos comestíveis desencadeou a geração de mais de 60 milhões de toneladas de *Spent Mushroom Substrate* (SMS), ou Substrato Gasto (SG), anualmente. O SMS é um resíduo orgânico resultante do processo de cultivo de cogumelos, o qual é composto por biomassa microbiana (micélio fúngico residual) e biomassa vegetal (substratos utilizados no cultivo do cogumelo) (Seekram; Thammasittirong; Thammasittirong, 2021; Leong *et al.*, 2022a).

A composição do SG é determinada a depender da espécie de cogumelo cultivada, localização e fatores provenientes dos substratos vegetais (bagaço de cana-de-açúcar, serragens, folha de bananeira, sabugo de milho, entre outros) (Figura 2 e 3). Contudo, em geral, o SG é composto por micélio fúngico residual com uma elevada variedade de biomassa lignocelulósica desintegrada, emendas (como o gesso), nutrientes, assim como alto teor de matéria orgânica e enzimas (Leong *et al.*, 2022b).

Figura 2 – Cultivo de *Pleurotus djamor* em substrato vegetal (folhas de bananeira, farelo de trigo e serragem de madeira).



Fonte: Autoria própria, 2023.

Figura 3 – Substrato Gasto de *Pleurotus ostreatus* cultivados em restolhos da plantação de milho.



Fonte: Zárate-Salazar, 2015.

Estima-se que, para cada 1 kg de cogumelo fresco produzido, são gerados 5 kg de SG. Diante disso, o descarte insustentável destas grandes quantidades de SG representa um problema relevante para a indústria em ascensão, visto que demanda alto custo e requer local de descarte específico. O destino inadequado pode provocar problemas ambientais, como contaminação do solo e poluição do ar e da água (Fujita *et al.*, 2021; Ahmad Zakil *et al.*, 2022; Leong *et al.*, 2022).

A fim de minimizar tais impactos ambientais, cientistas buscam estratégias para o desenvolvimento sustentável da indústria de cogumelos através da produção de produtos de valor agregado. Nesse sentido, é sabido que espécies de cogumelos comestíveis contêm determinados compostos bioativos com vastas propriedades antimicrobianas, os quais são excretados no substrato residual. Assim, o potencial uso do SG evidencia vantagem sobre substratos comerciais (Moraes *et al.*, 2020; Leong *et al.*, 2022b).

Os resíduos agroindustriais podem ser convertidos em uma variedade de produtos de elevado valor, além de ser fonte de nutrientes necessários ao cultivo de cogumelos e à produção de enzimas que degradam a lignocelulose no estado sólido. Dentre os diversos produtos potenciais neste processo biotecnológico, incluem-se biocombustíveis, produtos químicos finos de valor agregado e fontes de energia de baixo custo para fermentação microbiana e produção de enzimas (Kumla *et al.*, 2020).

A busca por alternativas para a reutilização de resíduos agrícolas é um tema que está em atenção dos especialistas acerca da sustentabilidade. O fomento à Economia Circular (EC), a qual engloba ações de reciclagem, reuso, logística reversa e prolongamento do ciclo de

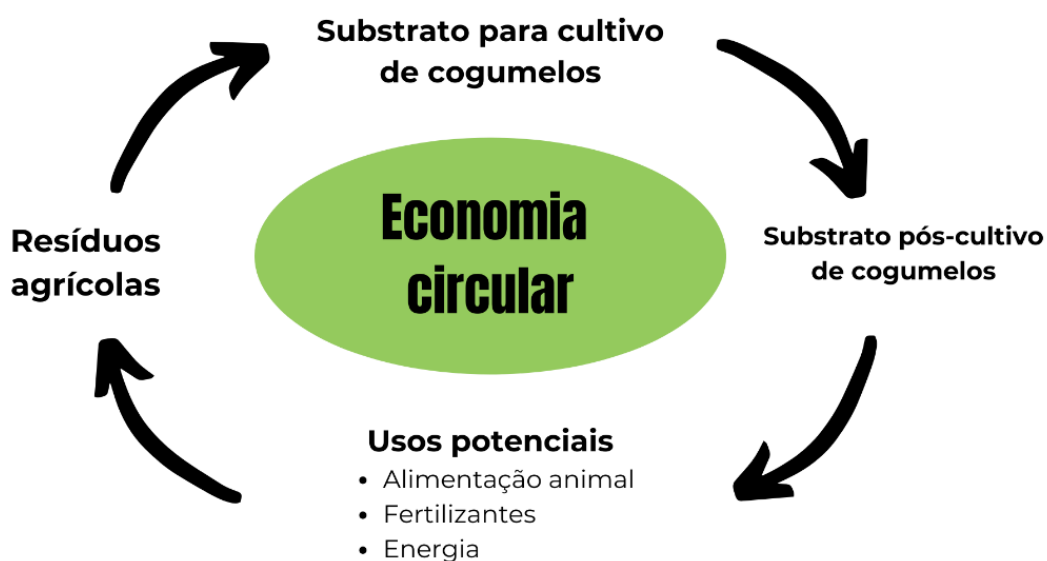
utilização de matérias-primas, objetiva o seu desenvolvimento como alternativa ao problema da escassez de recursos e sustentabilidade ambiental (Loyola Gonzales, 2022).

A EC é definida como um modelo econômico de conversão de recursos naturais em resíduos, de modo que objetiva o uso eficiente dos recursos, mediante mínimo desperdício, redução de recursos primários e valor agregado a longo prazo. À vista disso, os resíduos agroindustriais e o SG consistem em substratos relevantes na EC, pois podem agregar valor à produtos de baixo custo e, conseqüentemente, reduzir problemas ambientais (Bellettini *et al.*, 2019; Martín Carretero, 2019; Loyola Gonzales, 2022).

O descarte dos resíduos agrícolas frequentemente acontece em aterros, incineração ou queima a céu aberto, representando um importante desafio. Uma vez que o descarte inadequado acarreta em contaminação do solo e poluição do ar, é necessário promover alternativas de incentivo a utilização eficaz e eficiente dos substratos. Desse modo, tem-se melhoria na conservação ambiental, na reutilização de resíduos e no desenvolvimento sustentável da indústria de cogumelos (Leong *et al.*, 2022).

Com isso, para a definitiva contribuição no desenvolvimento ambiental, é necessário a criação de estratégias para a implementação da EC, a partir de ações inovadoras para o ciclo de reutilização de substratos. Desse modo, o SG é um recurso econômico viável para o descarte ecológico dos resíduos, frente a indústria de cogumelos (Kalmis *et al.*, 2008; Martín Marretero, 2019; Silva *et al.*, 2021).

Figura 4 – Processo da utilização de resíduos lignocelulósicos pela indústria de cogumelos e seu potencial de reutilização.



Fonte: Autoria própria, 2023.

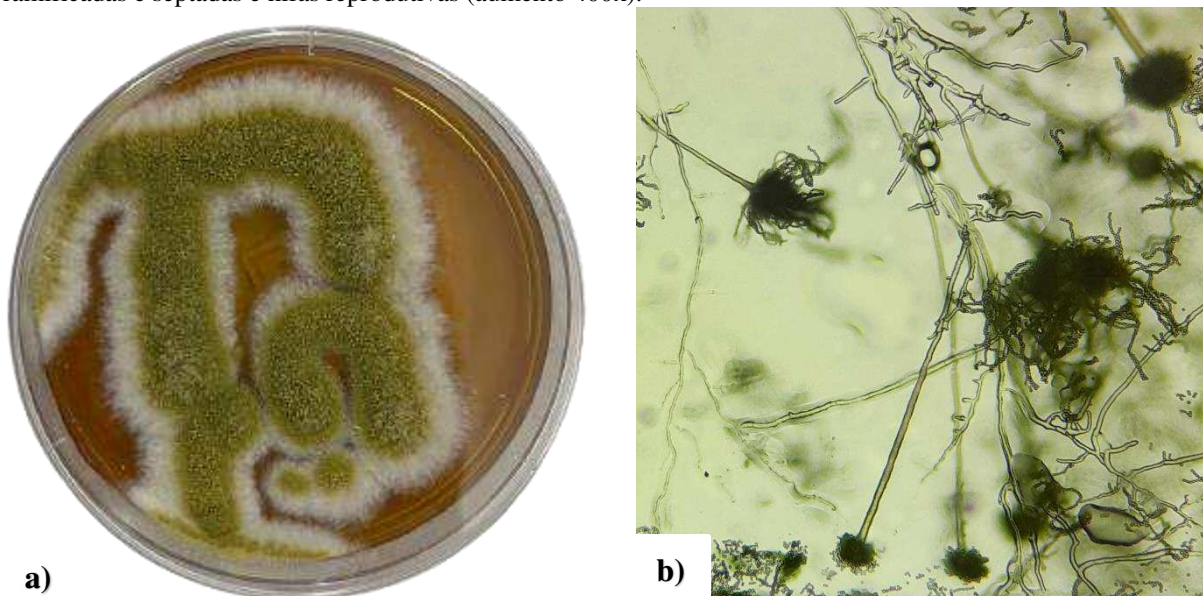
3.3 *Aspergillus flavus*

Uma variedade de alimentos pode sofrer deterioração durante o cultivo devido o aparecimento de fungos. Os fungos contribuem para a contaminação de diversos tipos de alimentos, resultando em deterioração de cerca de 30% do rendimento das culturas (Taheur *et al.*, 2019). Esse problema encontra terra fértil no Brasil, uma vez que altas temperaturas e umidade favorecem o crescimento desses microrganismos, de modo que os países que apresentam essas condições climáticas, geralmente sofrem maior contaminação (Rushing; Selim, 2019).

Adicionalmente, muitas espécies fúngicas são capazes de produzir micotoxinas. Micotoxinas são metabólitos tóxicos secundários de baixo peso molecular, os quais, em sua generalidade, apresentam alta toxicidade, podendo causar sérios danos à saúde humana. Dentre os principais gêneros produtores de micotoxinas em alimentos, destaca-se o *Aspergillus*, pois produz uma micotoxina denominada aflatoxina (Abbaszadeh *et al.*, 2014).

Aspergillus tem ampla distribuição e crescem na maioria dos substratos úmidos, assim, trazem ameaça a saúde pública. As principais espécies de *Aspergillus* produtoras de aflatoxinas são *A. flavus* e *A. parasiticus*, as quais representam ameaça a saúde humana e saúde do gado (Navale *et al.*, 2021). *A. flavus* é a espécie fúngica mais amplamente difundida do gênero (Figura 5), com ocorrência mundial em importantes *commodities* agrícolas, como arroz, milho, amendoim e outros. Após estabelecer essas fontes de alimento como hospedeiro, esse fungo produz micotoxinas, principalmente aflatoxinas, que contaminam o suprimento de alimentos (Rushing; Selim, 2019).

Figura 5 – Representação morfológica do *Aspergillus flavus*. a) Colônia granulosa de cor verde b) Hifas hialinas, ramificadas e septadas e hifas reprodutivas (aumento 400x).

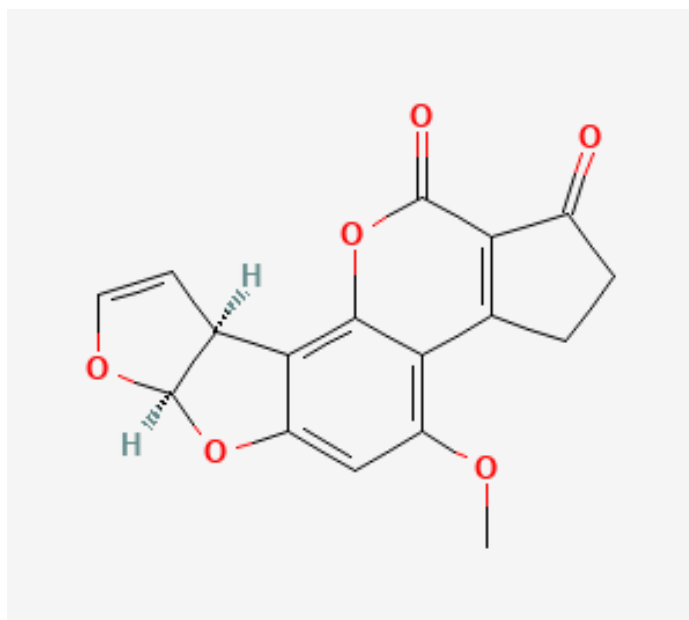


Fonte: Autoria própria, 2023.

Aflatoxinas são as micotoxinas mais tóxicas e comuns em alimentos, ocupando o sexto lugar entre os dez riscos à saúde mais importantes (Hu *et al.*, 2021). São um grupo de policetídeos derivados de furanocumarinas, as quais representam as micotoxinas mais tóxicas e cancerígenas (Navale *et al.*, 2021). Em especial, a aflatoxina B1 produzida por *A. flavus* é de particular importância, pois é reconhecida por possuir efeitos micotoxigênicos (Oliveira *et al.*, 2020).

Aflatoxinas B1 são relevantes na contaminação de produtos agrícolas, pois exibe maiores efeitos carcinogênicos, teratogênicos e mutagênicos quando comparado com outras toxinas. Esse tipo de aflatoxinas pertence ao grupo azul fluorescente, no qual o anel lactona da porção cumarina está aderido ao anel ciclopentenona (Figura 6) (Navale *et al.*, 2021).

Figura 6 – Fórmula estrutural da Aflatoxina B1.



Fonte: PubChem, 2023.

Um dos problemas de saúde pública que requer o controle efetivo de patógenos, mediante o uso de tecnologias de preservação industrial em toda a produção de alimentos, são as doenças disseminadas por alimentos. A produção de aflatoxinas por certas espécies de *Aspergillus* causam sérias preocupações em várias culturas agrícolas, em especial no amendoim e no milho, visto que têm papel fundamental na alimentação mundial (Hyldgaard; Mygind; Meyer, 2012; Battilani *et al.*, 2016).

Diante disso, uma das estratégias mais eficazes para reduzir a contaminação por micotoxinas em alimentos é prevenir o desenvolvimento dos fungos produtores de tais metabólitos (Oliveira *et al.*, 2020). Nesse sentido, o uso de conservantes sintéticos tem

contribuído na inibição desses microrganismos, a exemplo do ácido propiônico, propionato de sódio, dentre outros ácidos e sais. Entretanto, o uso desses compostos está sendo desencorajado por razões econômicas e devido a crescente preocupação com questões ambientais e de segurança alimentar. A resistência a fungicidas químicos também se tornou um problema significativo e aumentou a necessidade de desenvolvimento de novas alternativas (Abbaszadeh *et al.*, 2014).

Os praguicidas agrícolas são substâncias químicas sintéticas utilizadas para matar pragas de culturas ou para inibir o crescimento ou efeitos maléficos desses organismos. Os fungicidas compreendem agentes físicos, químicos ou biológicos cujo uso é combater fungos para controlar doenças e manter o rendimento e a qualidade das culturas (Brauer *et al.*, 2019). Desse modo, o tratamento com fungicida sistêmico é uma estratégia necessária no manejo de controle de pragas e doenças de plantas ao redor do mundo (Ayesha *et al.*, 2021).

O Carboxin (5,6-di-hidro-2-metil-1,4-oxatiina-3-carboxanilida) é um fungicida agrícola sistêmico e agente de tratamento de sementes. Denominado comercialmente como Vitavax®, é um fungicida heterocíclico, caracterizado como cristal de cor esbranquiçada e contém produtos de transformação ambiental, sendo o sulfóxido de amida de oxatiína, o oxicarboxina, o sulfona de amida de oxatiína e o sulfóxido de carboxina (PubChem, 2004).

Considerado o primeiro fungicida da classe dos inibidores da succinato desidrogenase (SDHI) (Brauer *et al.*, 2019), o Carboxin promove disfunção da succinato desidrogenase (SDH) no tricarboxílico e na cadeia de transporte de elétrons mitocondrial e, consequentemente, inibe a respiração celular das células fúngicas (Yang *et al.*, 2021). A classe dos SDHI apresenta risco de médio a alto para o surgimento de cepas resistentes, devido exercer atividade inibitória em um local específico (Brauer *et al.*, 2019).

Embora a literatura relate que este fungicida seja eficiente no controle de fungos oportunistas, como *Aspergillus* spp., *Penicillium* spp. e *Fusarium moniliforme* (Plazas, 2002), há registros de resistência à esta droga contra os seguintes fungos: *Botrytis cinerea*, *Alternaria alternata*, *Didymella brioniae*, *Podosphaera xanthii* e *Corynespora cassicola*. Com isso, devido ser um fungicida com atividade de amplo espectro, quando utilizada de maneira exacerbada pode culminar no desenvolvimento de cepas de agentes patogênicos resistentes (Brauer *et al.*, 2019). Portanto, a busca por novos antifúngicos que possam modular a ação de fungicidas utilizados na agricultura pode contribuir para mitigar esses desafios.

4 METODOLOGIA

O projeto foi desenvolvido no Laboratório de Bioquímica, Microbiologia e Farmacognosia do Centro de Educação e Saúde (UFCG) e do Grupo de Pesquisa e Produção de Cogumelos Comestíveis da UFPB (GPEC-Campus Areia-PB).

4.1 OBTENÇÃO DO SUBSTRATO GASTO

Esta etapa ocorreu em colaboração com o Grupo de Pesquisa & Produção de Cogumelos Comestíveis da UFPB (Campus II - Areia-PB). Os cogumelos foram inoculados nos substratos previamente esterilizados em autoclave. O substrato para a inoculação do micélio foi composto por 100% de folhas de bananeira secas, trituradas e peneiradas; com adição de suplementos: 10% de serragem de madeira secas e peneiradas e 10% de farelo de trigo.

O substrato colonizado permaneceu aproximadamente 15 dias para seu completo desenvolvimento, na sala de frutificação. A sala possuiu controle de temperatura e umidade relativa (UR) feita por umidificador de ar e exaustor, para que o ambiente ficasse em condições ideais, sendo UR na faixa de 85% a 90%; além de possuir controle de luz, em que as luzes de led ficaram ligadas no intervalo de 6h00 às 18h00 (Zárate-Salazar *et al.*, 2020). O material resultante desta etapa de cultivo foi o SGPd e SGPo.

4.2 OBTENÇÃO DOS EXTRATOS DO SUBSTRATO GASTO

Resumidamente, 2 g de amostras SGPd e SGPo frescas foi extraída por maceração com 50 mL de solução etanol/água (70:30 v/v). O processo de extração aconteceu em temperatura ambiente por 5 dias. Posteriormente, os extratos foram submetidos a filtração simples usando papel de filtro qualitativo e armazenados sob abrigo de luz e refrigeração (Sardar *et al.*, 2017). Os extratos hidroalcóolicos de SGPd e SGPo foram concentrados em rota evaporador (Evaporador Rotativo SL-126), acoplado a bomba de vácuo (Exipump), para evaporação do solvente por 7h na temperatura de 50°C até obtenção do extrato hidroalcolílico bruto.

4.3 PROSPECÇÃO QUÍMICA DOS EXTRATOS

A composição do substrato gastos de cogumelos frescos foi determinada através de métodos espectroscópicos (Tambe; Bhambar, 2014), utilizando espectrofotômetro. Realizamos a estimativa quantitativa do teor de algumas classes de compostos. A estimativa do teor polifenóis totais foi analisada usando o reagente Folin-Ciocalteu (Sharif *et al.*, 2017), utilizando espectrofotômetro a 765 nm. O teor de fenólicos total foi determinado a partir de uma curva

padrão de equivalentes de ácido gálico, como componente padrão. A estimativa do teor de flavonoides total foi determinada de acordo com Sharif *et al.* (2017). A absorbância da amostra foi analisada a 510 nm em um espectrofotômetro. O teor de flavonoide total foi determinado a partir de uma curva padrão de equivalentes de quercetina, como componente padrão.

4.4 ATIVIDADE ANTIFÚNGICA

4.4.1 INÓCULO

Para os ensaios da atividade antifúngica, foram utilizadas as seguintes cepas produtoras de micotoxinas: *Aspergillus flavus* AS27, *A. flavus* AS29, *A. flavus* AS35, *A. flavus* AS101, *A. flavus* AS103 e *A. flavus* AS118, sendo todas isoladas de milho avatí morotí e obtidas da “Colección de Cultivos de Microorganismos de la Universidad Nacional de Asunción” - Paraguai. As cepas fúngicas foram mantidas em ágar batata glicose (Difco®) a 35°C por até 5 dias. As recentes colônias fúngicas foram cobertas com solução salina estéril (NaCl 0,9 %) e 0,1% de Tween 20 e agitadas levemente. A separação das estruturas fúngicas (hifas e conídios) sucederá por meio de sedimentação por 15-20 minutos, e o uso da parte superior da suspensão para teste de susceptibilidade. As densidades das suspensões de cada cepa foram ajustadas com salina estéril em espectrofotômetro a 625 nm para um valor de 70-80% de transmitância, a qual corresponde a um inóculo de $2-5 \times 10^6$ conídios/mL. A suspensão foi então diluída 1:10 em RPMI 1640 (Sigma-Aldrich®, Brasil) para obter a concentração de trabalho do inóculo de $2-5 \times 10^5$ UFC/mL (Arendrup *et al.*, 2020).

4.4.2 CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA MÍNIMA (CIM)

A determinação da CIM das drogas-teste foi realizada pela técnica de microdiluição (Arendrup *et al.*, 2020). A suspensão foi então diluída 1:10 em RPMI 1640 para obter a concentração de trabalho do inóculo de $2-5 \times 10^5$ UFC/mL. Em cada linha da placa, foram adicionados 100 µL das drogas-teste duplamente concentradas e diluídas em RPMI 1640. Em cada cavidade da placa, foram adicionados 100 µL do inóculo previamente preparado. Um controle negativo (RPMI 1640 + inóculo), um controle com DMSO (DMSO + inóculo + RPMI 1640) foram realizados. As placas foram seladas e incubadas a 36°C por até 48 horas para a realização da leitura. A CIM foi definida como a menor concentração das drogas capaz de inibir completamente o crescimento fúngico quando comparadas às cavidades do controle. CIM acima de 1024 µg/mL representa ausência de atividade antifúngica.

4.4.3 CONCENTRAÇÃO FUNGICIDA MÍNIMA (CFM)

Para obter a Concentração Fungicida Mínima (CFM), volumes de 10 µL foram retirados de cada poço sem crescimento fúngico (concentrações maiores que a CIM) em placas de Ágar Sabouraud Glicose (ASG). As colônias de fungos foram contadas após incubação das placas a 28° até 7 dias. A CFM foi a concentração de droga mais baixa que resultou em nenhum crescimento ou em menos de três colônias (99,9% de morte) (Quadros *et al.*, 2011). A droga possuiu ação fungicida se a proporção de CFM/CIM não excedeu um valor de 4, enquanto que foi considerada fungistática quando CFM/CIM foi maior que 4 (Hazen, 1998). Os extratos com maior atividade nesta etapa foram usados nas etapas posteriores.

4.4.4 GERMINAÇÃO DE CONÍDIOS

Para os testes de germinação de conídios, tubos *ependorf* estéreis com 0,5 mL de RPMI 1640 foram misturados com as drogas-teste (múltiplos de CIM). Após, 100 µL do inóculo foi adicionado aos tubos e homogeneizados. Os tubos foram incubados a 28°C por 24 horas. Um experimento controle sem adição das drogas foi realizado. As quantidades de conídios germinados e conídios não germinados foram determinadas usando um hemocitômetro. A taxa de germinação foi calculada para cada grupo testado (Oliveira Pereira; Mendes; Oliveira Lima, 2013) conforme fórmula abaixo.

$$\text{Taxa de germinação de conídios: } \frac{\text{Nº de germinados}}{\text{Nº de geminados e não germinados}} \times 100$$

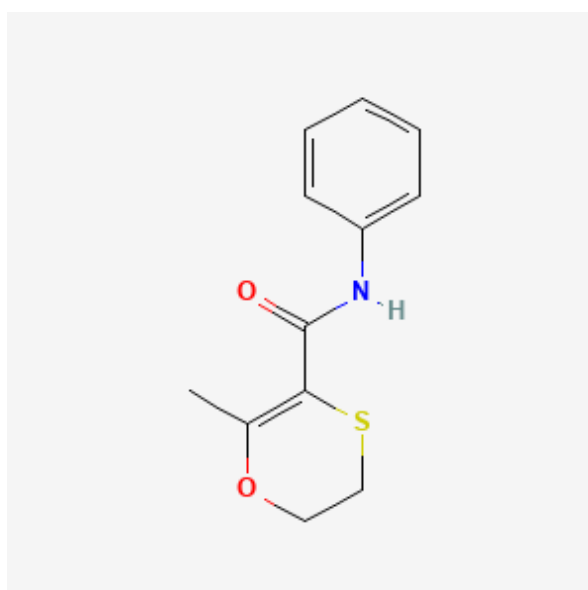
4.4.5 CRESCIMENTO MICELIAL

O crescimento foi analisado pela técnica de crescimento micelial radial em meio sólido (Oliveira Lima *et al.*, 2017). Em placas de Petri com 10 mL de ASG fundido em aproximadamente 35°C, foram adicionadas as drogas-teste (múltiplos de CIM). Após solidificação do meio, colônias recém cultivadas em ASG (5 mm de diâmetro) foram colocadas na superfície do meio. Um experimento controle sem adição das drogas foi realizado. As placas foram incubadas a 36°C por até 5 dias e o diâmetro do crescimento radial dos fungos foi registrado diariamente. Os resultados foram expressos em diâmetro da colônia (mm) em função do tempo de incubação.

4.5 CARBOXIN

O Carboxin ($C_{12}H_{13}NO_2S$) é um fungicida utilizado na agricultura para o tratamento de sementes (Figura 7). Foi adquirido pela Sigma-Aldrich®. A droga-teste foi dissolvida em dimetilsulfóxido (DMSO) na concentração de 0,5%. Em seguida, ocorreu diluição em meio a fim de obter a concentração inicial de 1024 $\mu\text{g/mL}$. A partir desta concentração, foram feitas diluições seriadas em meio RPMI – 1640 (Sigma-Aldrich®) para obter concentrações inferiores. O carboxin (CBX) foi utilizado como controle positivo nos testes de atividade antifúngica contra o *A. flavus*.

Figura 7 - Estrutura química do Carboxin.



Fonte: PubChem, 2004.

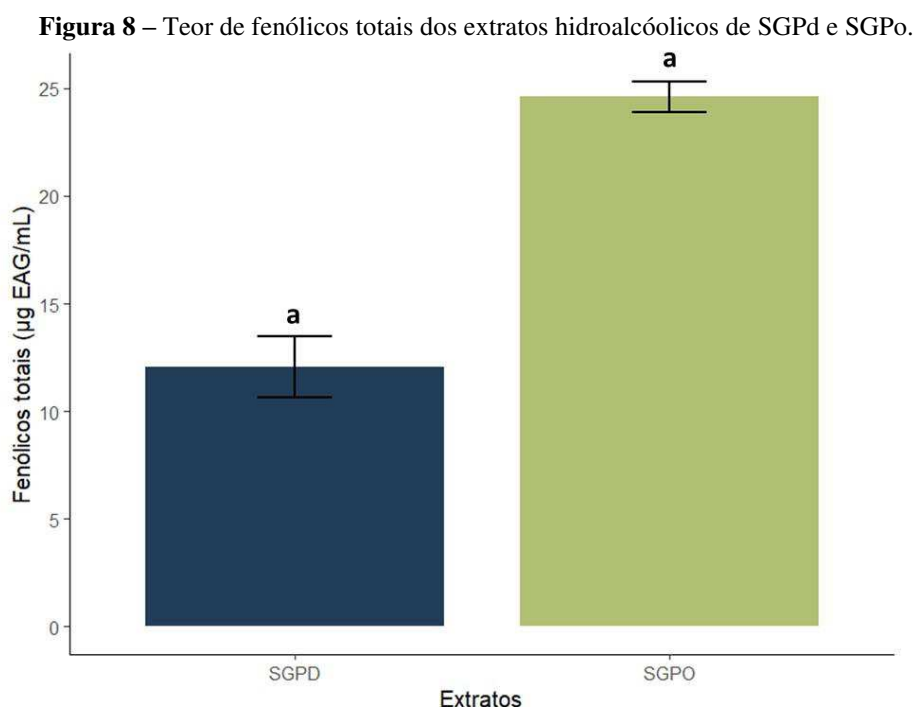
4.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os experimentos foram realizados em triplicata. Os valores de CIM e CFM foram expressos como moda, e os resultados da taxa de germinação de conídios e crescimento micelial foram expressos como média $\pm$ desvio padrão (DP). As diferenças entre os perfis micoquímicos dos extratos SGPd e SGPo foram analisadas pelo teste T. Realizamos ANOVA de uma via com teste *post-hoc* de Tukey para ensaio de germinação de conídios para determinar diferenças significativas entre os tratamentos. Para o ensaio de crescimento micelial, realizaremos ANOVA mista com correção do teste de Bonferroni. Consideramos que houve diferença estatística quando $p < 0,05$. O intervalo de confiança foi de 95%. O tratamento dos dados foi realizado em R 4.1.0 na interface *RStudio*, e foi utilizado o pacote *ggplot2* para visualização dos dados.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Inicialmente, avaliou-se a presença de compostos secundários, os fenólicos totais e flavonoides totais, a fim de fundamentar a presença de substâncias com atividade antifúngica nos extratos em estudo. A prospecção química dos extratos foi definida a partir da determinação de metabólitos secundários presentes nos extratos de SGPd e SGPo. Respectivamente, a Figura 8 e a Figura 9 apresentam os teores encontrados de fenólicos totais e flavonoides totais, dos extratos hidroalcóolicos de SGPd e SGPo.

A determinação do teor de fenólicos totais dos extratos foi evidenciada em microgramas de EAG (Equivalentes de Ácido Gálico) por mililitro (mL) de extrato. Observou-se que o maior teor de fenólicos totais foi encontrado em SGPo com média de 24,60 μg EAG/mL e desvio padrão (DP) de $\pm 0,72$ em oposição a 12,04 μg EAG/mL e desvio padrão (DP) de $\pm 1,41$ presentes em SGPd (Figura 8). Comparativamente, obteve-se relevância estatística ($p < 0,05$).

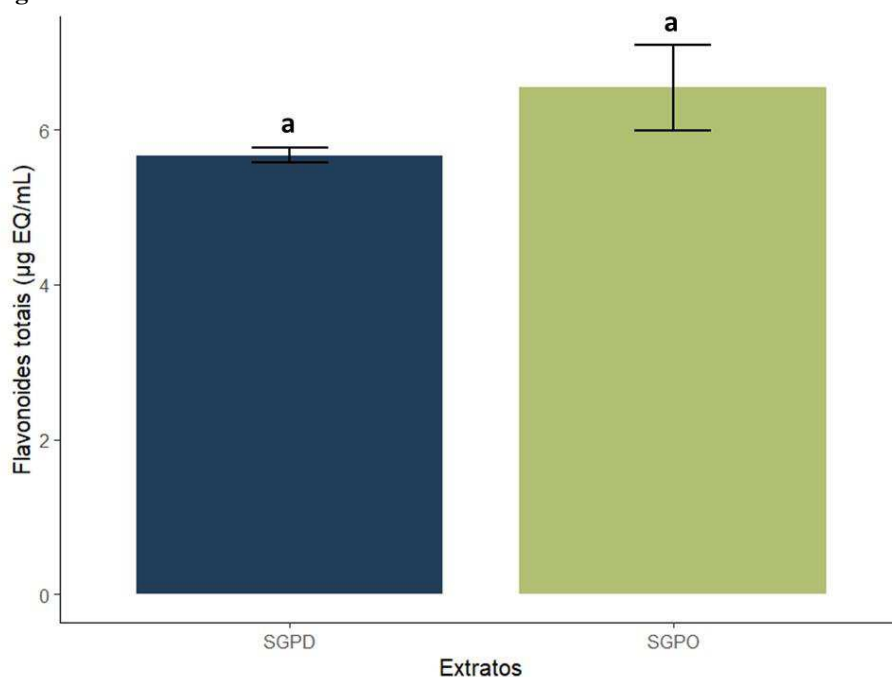


Fonte: Autoria própria, 2023.

Houve diferença significativa ($p < 0,05$) quando comparado SGPd e SGPo (a). SGPd: Substrato Gasto de *Pleurotus djamor*; SGPo: Substrato Gasto de *Pleurotus ostreatus*; EAG: Equivalentes de Ácido Gálico.

No tocante aos flavonoides totais, os resultados encontrados foram expressos em microgramas de EQ (Equivalentes de Quercetina) por mililitro (mL) de extrato. Os resultados de SGPd e SGPo obtidos variaram, respectivamente, de 5,67 μg EQ/mL a 6,55 μg EQ/mL (Figura 9). Constatou-se que os resultados obtidos são estatisticamente significativos ($p < 0,05$).

Figura 9 – Teor de flavonoides totais dos extratos hidroalcóolicos de SGPD e SGPO.



Fonte: Autoria própria, 2023.

Houve diferença significativa ($p < 0,05$) quando comparado SGPD e SGPO (a). SGPD: Substrato Gasto de *Pleurotus djamor*; SGPO: Substrato Gasto de *Pleurotus ostreatus*; EQ: Equivalentes de Quercetina.

A resistência microbiana vem sendo um problema crescente de saúde. A partir disso, há o carecimento de novas classes de fármacos, sobretudo de fontes naturais. No uso de plantas como terapia antimicrobiana, os microrganismos tem baixa capacidade de adaptação ao mecanismo de ação contra os microrganismos. Tal fato pode ser evidenciado pela ação de metabólitos secundários produzidos pelas plantas como defesa do seu próprio metabolismo. Assim, a eficácia das plantas contra agentes infecciosos demonstra vantagens expressa na boa aceitação, na economia e na redução de efeitos colaterais (Kowalski *et al.*, 2020). Portanto, por ter em sua composição compostos secundários e micélios fúngicos, o SG se configura como um potencial antifúngico.

De modo geral, o SG possui micélios de cogumelos e contém níveis elevados de compostos bioativos, dentre os quais se encontram os fenólicos e flavonoides (He *et al.*, 2016). É sabido que esses compostos secundários exercem atividade fundamental na indução de mecanismos de defesa planta-patógeno, devido seus efeitos antimicrobianos (Bonaldo *et al.*, 2007). Estudos demonstram que os compostos fenólicos desempenham mecanismo de ação nas membranas celulares (Rahma *et al.*, 2014).

Compostos fenólicos apresentam em sua estrutura química hidroxilas e anéis aromáticos, os quais atuam na síntese de moléculas antioxidantes endógenas nas células. Observou-se que os compostos fenólicos estão presentes em todos os cogumelos, em

concentrações de 6,25 a 3,62 mg/mL de compostos fenólicos (Sánchez, 2017). A partir disto, notou-se que estes compostos possuem múltiplas funções terapêuticas para a saúde humana, dentre elas a ação antifúngica (Rahma *et al.*, 2014).

Neste sentido, a estimativa de compostos fenólicos dos extratos em estudo foi coerente com investigações existentes sobre a presença de atividade antimicrobiana de extratos do cultivo de cogumelos *Pleurotus* spp. (Flores *et al.*, 2022). Um estudo que determinou a presença de compostos secundários em extratos aquoso e etanólico de própolis de *Apis mellifera*, constatou que os valores de flavonoides totais são inferiores aos de fenólicos totais (Alves; Kubota, 2013). Demonstrando que os valores encontrados neste trabalho estão dentro dos padrões encontrados por outros autores.

Foi relatado na literatura a presença de compostos fenólicos totais em *Pleurotus* spp., com concentrações variando de 6,76 a 16,92 mg de EAG/100g (Corrêa *et al.*, 2016). Desse modo, tem-se que o extrato de SGPd se manteve dentro dos valores relatados na literatura, o SGPo apresentou valor superior.

Os metabólitos secundários bioativos modulam a criação de novos agentes farmacêuticos. Os compostos secundários podem ser utilizados na agricultura e indústrias farmacêuticas e manufactureiras. Dessa maneira, podem demonstrar eficácia como agentes antibacterianos e inseticidas, por exemplo (Daley *et al.*, 2017).

Dessa forma, a etapa seguinte do trabalho consistiu na determinação da CIM e da CFM (Tabela 1) para avaliar a atividade antifúngica dos extratos do SGPd e do SGPo contra *Aspergillus flavus*. Observou-se que as drogas em estudo apresentaram atividade antifúngica contra *A. flavus*, evidenciando efeitos a partir de 1024 µg/mL. O SGPo se mostrou mais promissor, visto que, das 6 cepas testadas, 5 foram inibidas em 1024 µg/mL. Por outro lado, em SGPd apenas AS29, AS35 e AS101 foram inibidas em 1024 µg/mL, enquanto que as demais cepas foram inibidas a partir de 2048 µg/mL.

O SGPd obteve ação fungicida, necessitando de CFM 4x maior que a CIM para as cepas AS29, AS35 e AS101, 2x maior para a cepa AS118 e com a mesma concentração obteve tal efeito nas cepas AS27 e AS103, quando comparado aos respectivos valores de CIM. Semelhantemente, SGPo também apresentou ação fungicida contra todas as cepas testadas, com 1x CIM para as cepas AS35, AS101, AS103 e AS118; e 2x CIM para AS27 e AS29. O CBX se mostrou mais eficaz que as drogas em estudo, apresentando ação fungicida, com CIM variando entre 32 a 512 µg/mL.

Tabela 1 – Concentração inibitória mínima e concentração fungicida mínima ($\mu\text{g/mL}$) dos extratos de SGPd, SGPo e CBX contra cepas de *Aspergillus flavus*.

Fungos	SGPd			SGPo			CBX		
	CIM	CFM	CFM/CIM	CIM	CFM	CFM/CIM	CIM	CFM	CFM/CIM
AS27	2048	2048	1 (Fungicida)	1024	2048	2 (Fungicida)	32	32	1 (Fungicida)
AS29	1024	4096	4 (Fungicida)	1024	2048	2 (Fungicida)	32	32	1 (Fungicida)
AS35	1024	4096	4 (Fungicida)	1024	1024	1 (Fungicida)	32	64	2 (Fungicida)
AS101	1024	4096	4 (Fungicida)	1024	1024	1 (Fungicida)	512	2048	4 (Fungicida)
AS103	2048	2048	1 (Fungicida)	1024	1024	1 (Fungicida)	512	2048	4 (Fungicida)
AS118	2048	4096	2 (Fungicida)	2048	2048	1 (Fungicida)	512	2048	4 (Fungicida)

AS: *Aspergillus*; CIM: Concentração Inibitória Mínima; CFM: Concentração Fungicida Mínima; SGPd: Substrato Gasto de *Pleurotus djamor*; SGPo: Substrato Gasto de *Pleurotus ostreatus*; CBX: Carboxin.

Fonte: Autoria própria, 2023.

Semelhantemente a metodologia adotada nesta pesquisa, evidências na literatura demonstram que o uso do SG é uma fonte promissora para o controle de fungos deteriorantes de alimentos, pois apresenta potencial de inibição. Isto sugere que as propriedades inibitórias dos microrganismos inerentes ao SG são essenciais para a atividade antifúngica (Ishihara *et al.*, 2018; Shanmugavelu; Sevugaperumal, 2021).

Estudo revelou que gêneros de cogumelos como *Pleurotus*, *Agaricus*, *Lactarius*, apresentam atividade antifúngica contra *Aspergillus* spp., *Penicillium* spp. e *Trichoderma* spp. (Shen *et al.*, 2017). Observou-se atividade antifúngica de *Pleurotus* spp. a partir de compostos de ácidos graxos insaturados em micélios e extratos líquidos (Owaid; Al-Saeedi; Al-Assaffii, 2017).

Angeline *et al.* (2021) observaram que há ação antimicrobiana em extratos do cultivo de cogumelos *Pleurotus* spp. contra espécies fúngicas de dermatófitos (*Arthroderma crocatum*, *A. currey*, *A. gypseum*, *A. quadrifidum*, *A. insingulare*, *A. quadrifidum*, *Trichophyton mentagrophytes*, *T. mentagrophytes*, *T. rubrum* e *T. tonsurans*). De modo que todos os testes demonstraram inibição ativa do crescimento fúngico, sendo *A. currey* a espécie fúngica mais sensível aos extratos de cogumelos, com faixa de CIM entre 9,92 e 79,37 $\mu\text{g/mL}$. Flores e colaboradores (2022) notaram a atividade antimicrobiana de extratos de micélios de *Pleurotus*

em contração de 1,56 a 200 µg/mL, sendo *Candida papapilosis* a cepa mais sensível (CIM entre 7,78 e 200 µg).

Confirmando isso, Ishihara *et al.* (2018) evidenciaram que o extrato aquoso de biomassa pós-cultivo de *Lentinula edodes* contém 3 compostos fenólicos antimicrobianos. Semelhantemente, Fujita *et al.* (2021) constataram que compostos voláteis emitidos pelo SG de *Hypsizygus marmoreus*, *Pholiota microspora*, *Lyophyllum decastes* e *Auricularia polytrichaem*, suprimem a formação de lesões em folhas induzidas pelo fungo *Alternaria brassicicola*.

O SG resultante do cultivo de *P. ostreatus* também demonstrou um alto potencial em reduzir o impacto da murcha de *Fusarium* da bananeira (Ocimati *et al.*, 2021). Esses achados sugerem que o SG pode ser uma fonte promissora para o controle de fungos deteriorantes de alimentos. Apesar disso, nada foi encontrado sobre a atividade antifúngica do SG de *P. djamor* contra o fungo *Aspergillus flavus*.

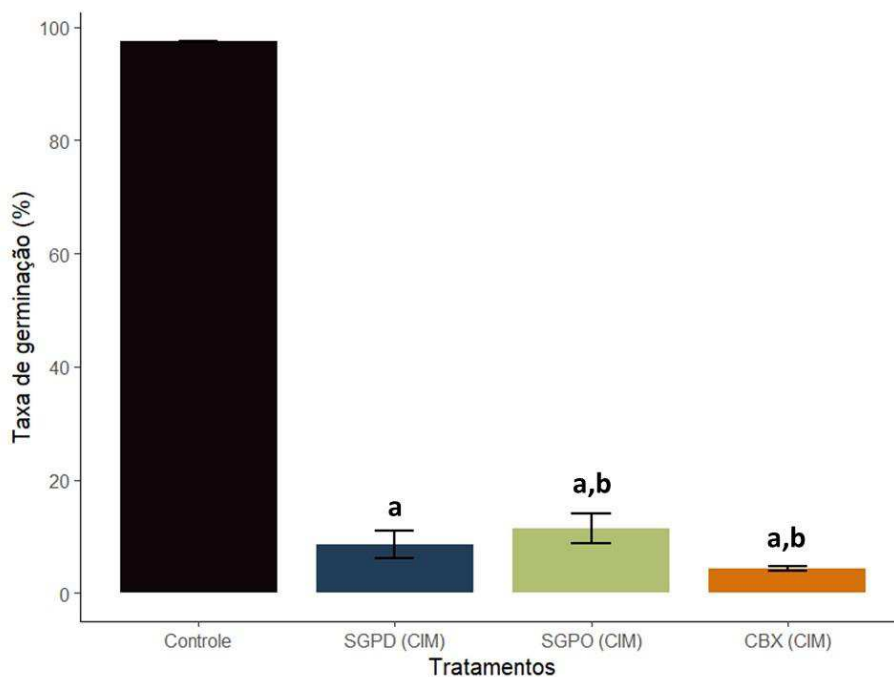
Em um estudo realizado por Shanmugavelu e Sevugaperumal (2021), em que utilizou SG de *Pleurotus* cultivado em folhas de arroz, determinou-se que o SG inibiu o crescimento de *Aspergillus* spp. em meio sólido. As zonas de inibição variaram de 8,2 a 16,6 mm.

A partir dos valores de CIM e CFM obtidos, escolheu-se duas cepas, com maior (AS35) e menor (AS118) sensibilidade à SGPd e SGPo, com o objetivo de determinar o potencial de inibição da germinação de conídios e crescimento micelial.

A determinação da taxa de germinação consiste em ensaios de germinação de conídios, os quais almejam verificar se as drogas conseguem inibir o processo de germinação, sendo uma etapa importante para o desenvolvimento fúngico.

SGPd, SGPo e CBX inibiram a germinação dos conídios de AS35 ($p < 0,05$), conforme pode ser visto na Figura 10. Nesta mesma cepa, SGPd e SGPo tiveram efeitos semelhantes, contudo notou-se que as drogas-teste apresentaram efeito significativo na inibição da germinação quando feita a associação de CBX com SGPo ($p < 0,05$). De modo contrário, em AS118 a combinação das drogas-teste não obteve dados estatisticamente relevantes, como disposto na Figura 11.

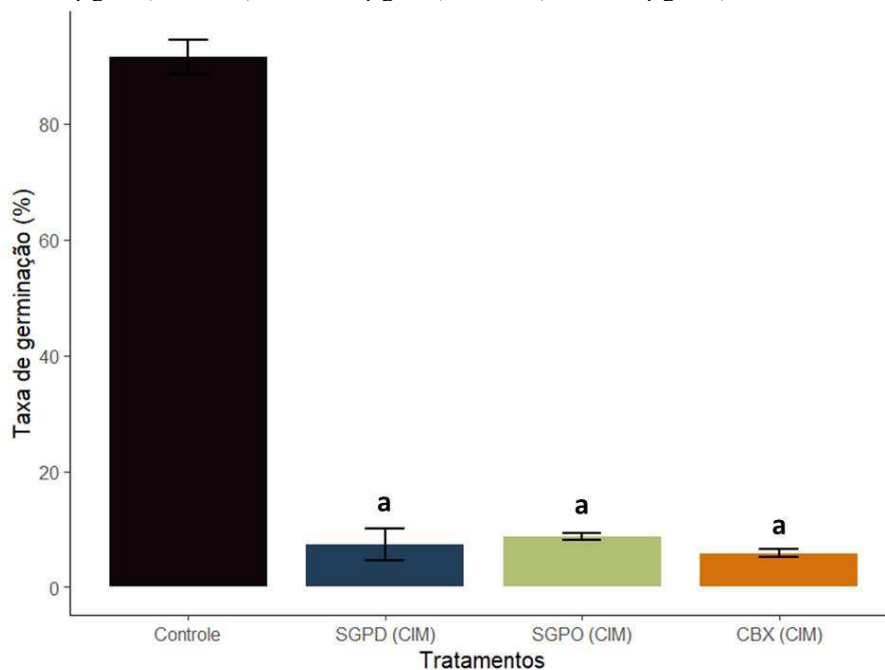
Figura 10 – Percentual de conídios germinados de *Aspergillus flavus* AS35 na ausência (controle) e na presença de SGPd (CIM 1024 µg/mL), SGPo (CIM 1024 µg/mL) e CBX (CIM 32 µg/mL).



Fonte: Autoria própria, 2023.

Houve diferença significativa ($p < 0,05$) quando comparado ao controle (a); quando comparado ao CBX com SGPo (b). AS: *Aspergillus*; CIM: Concentração Inibitória Mínima; SGPd: Substrato Gasto de *Pleurotus djamor*; SGPo: Substrato Gasto de *Pleurotus ostreatus*; CBX: Carboxin.

Figura 11 – Percentual de conídios germinados de *Aspergillus flavus* AS118 na ausência (controle) e na presença de SGPd (CIM 2048 µg/mL), SGPo (CIM 2048 µg/mL) e CBX (CIM 512 µg/mL).



Fonte: Autoria própria, 2023.

Houve diferença significativa ($p < 0,05$) quando comparado ao controle (a). AS: *Aspergillus*; CIM: Concentração Inibitória Mínima; SGPd: Substrato Gasto de *Pleurotus djamor*; SGPo: Substrato Gasto de *Pleurotus ostreatus*; CBX: Carboxin.

Os conídios fúngicos são estruturas assexuadas que originam as hifas. De modo que, no decurso da germinação de conídios, há o crescimento isotrópico com posterior brotamento celular, promovendo o desenvolvimento de hifas fúngicas. A germinação de conídios é considerada a principal etapa para a disseminação dos fungos (Michael *et al.*, 1996; Anju *et al.*, 2015). Os principais fatores que contribuem para a fácil disseminação no meio são a baixa atividade de água e a ampla faixa de temperatura ($< 0^{\circ}\text{C}$ a 40°C) (Moraes; Holanda, 2010). Assim, é fundamental a busca por novas alternativas bloqueadores desta etapa a fim de evitar a contaminação e consequente deterioração do alimento pelo fungo.

A germinação de conídios em muitos fungos filamentosos necessita de sais inorgânicos, açúcares e aminoácidos. Foi revelado na literatura que a via de sinalização da proteína quinase A (PKA) está envolvida na germinação de conídios e é fundamental para a resposta contra agentes danosos à parede celular no fungo. Desse modo, quando há resposta negativa na germinação e uma parede celular hipersensível, tem-se uma resposta ideal para a terapêutica. É importante considerar que proteínas e enzimas presentes na parede celular são constituintes relevantes para alvos antifúngicos. Dentre os reguladores de parede celular identificadas em *A. flavus*, tem-se: 1,3- β -glucano, proteína bifuncional de biossíntese de arginina, quitina sintase classe I, dentre outras (Baltussen *et al.*, 2019). Além disso, a germinação de conídios é importante na determinação do prazo de validade de um alimento. Visto que o desenvolvimento dos conídios varia de acordo com o pH, disponibilidade de água, temperatura e a modelagem (Dijksterhuis, 2017).

Apesar de não haver relatos da ação do extrato de SG do *Pleurotus* spp. na inibição da germinação de conídios de *A. flavus*, há estudos que corroboram com esta pesquisa. Em busca na literatura, encontrou-se um estudo que observou a presença de compostos antifúngicos no extrato de SG de *shiitake* (*Lentinula edodes*) cultivados em folhas de arroz mediante ensaio de inibição da germinação de conídios de *Pyricularia oryzae*. Dessa maneira, observaram que, na solução contendo extrato de SG, a taxa de germinação foi de 4,1% contra 91,2% em água destilada, demonstrando o potencial antifúngico do SG (Ishihara *et al.*, 2018).

Gong e colaboradores (2019) isolaram uma bactéria (*Alcaligenes faecalis* N1-4) do solo da rizosfera da planta de um chá e observaram que ela foi capaz de produzir compostos voláteis antifúngicos e inibir a germinação de conídios de *A. flavus*. Notou-se que a taxa de inibição de N1-4 na germinação de conídios e no crescimento micelial foi de até 100% em comparação com o controle.

Um estudo avaliou o potencial de produção de compostos orgânicos voláteis antifúngicos de leveduras isoladas de folhas de arroz, cana-de-açúcar e milho contra *A. flavus*

e observou que houve inibição da germinação de conídios na taxa de $3,3\% \pm 49,3\%$ (Jaibangyang; Nasanit, 2020). Assim, o SG é uma alternativa sustentável na busca de novos agentes antifúngicos contra o *Aspergillus*. A inibição da germinação de conídios e do crescimento micelial do *A. flavus* apontam como atividades de avaliação no controle da doença de plantas contaminadas pelo patógeno. Dessa forma, são necessários pesquisas com testes fidedignos que garantam a eficácia do uso do SG no controle fúngico.

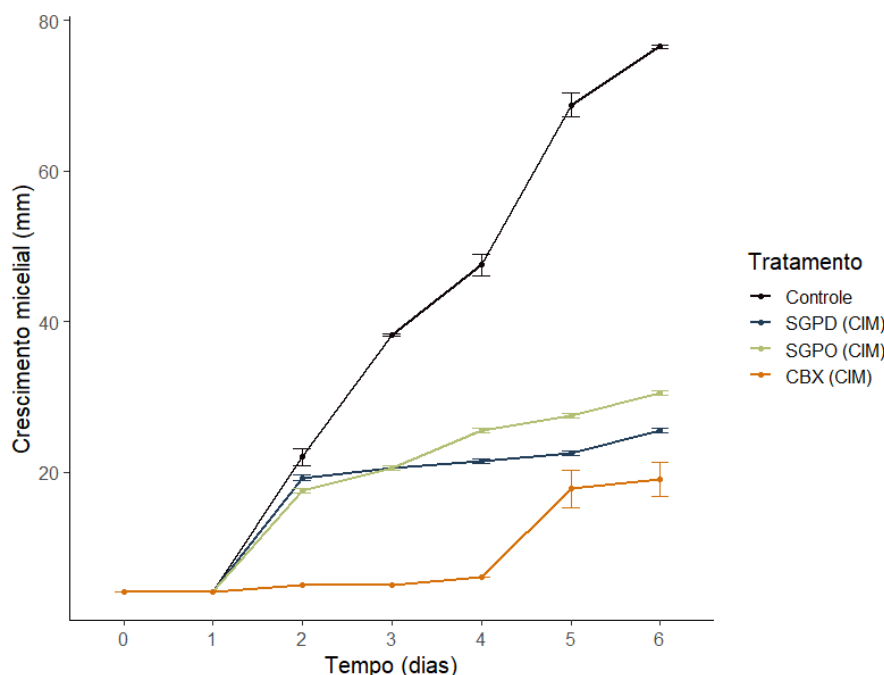
Considerando o efeito inibidor de SGPd e SGPo sobre a germinação de conídios, realizou-se a avaliação do efeito inibitório das drogas sobre o crescimento micelial. Os resultados estão expostos nas Figuras 12 e 13.

A análise do crescimento micelial das cepas AS35 e AS118 foram realizadas mediante quantificação do diâmetro de crescimento radial dos fungos, durante 5 dias. As Figuras 12 e 13 demonstram o crescimento micelial radial em placa Petri contendo ASG e as drogas-teste nas concentrações de CIM encontradas previamente. Observa-se que, considerando o tempo e as diferenças de eficácia das drogas-teste, SGPd, SGPo e CBX foram capazes de reduzir o crescimento micelial das cepas AS35 e AS118. Além das drogas-teste, foi realizado uma placa para fins de controle.

De acordo com o crescimento micelial da cepa AS35 (Figura 12), constatou-se que o efeito do tempo foi estatisticamente significativo ($p < 0,05$), bem como se observou interação entre tempo e tratamento ($p < 0,05$). As comparações pareadas posteriores mostraram que o crescimento micelial no grupo controle alterou no decorrer do tempo. Os controles cresceram progressivamente a partir do dia 2 ($p < 0,05$). De modo geral, o micélio fúngico se desenvolveu significativamente após 2 dias de incubação na presença de SGPd e SGPo ($p < 0,05$). Na presença de CBX, a evidência do crescimento se deu após 4 dias de incubação.

Ao verificar os resultados entre os grupos de tratamento em cada dia de incubação, pode-se dizer que CBX e SGPo diferem do controle a partir do dia 2 em diante, enquanto SGPd apresenta o mesmo efeito a partir do dia 3 de incubação. A começar do dia 2, o CBX foi mais eficaz que o SGPd e o SGPo. No dia 4 em diante, o SGPd apresentou um efeito inibitório maior do que o SGPo.

Figura 12 – Crescimento micelial radial (mm) da cepa *Aspergillus flavus* AS35 na presença e ausência das drogas-teste (SGPd, SGPo e CBX).



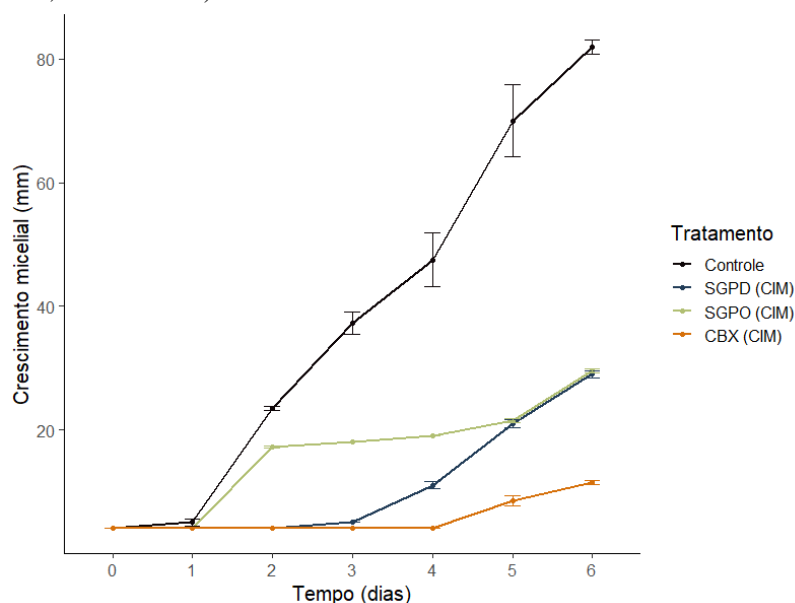
Fonte: Autoria própria, 2023.

AS: *Aspergillus flavus*; SGPd: Substrato Gasto de *Pleurotus djamor*; SGPo: Substrato Gasto de *Pleurotus ostreatus*; CBX: Carboxin.

A cepa AS118 demonstrou relevância estatística ($p < 0,05$) sobre o efeito do tempo no crescimento micelial, bem como apresentou interação entre tratamento e tempo ($p < 0,05$). As comparações posteriores apontam alterações no crescimento micelial do grupo controle durante o período de teste, de modo que se observa influência do tempo e droga utilizada. Após o dia 2 houve crescimento progressivo do controle ($p < 0,05$). Em geral, na presença das drogas-teste o desenvolvimento significativo do micélio fúngico se deu a partir de 4 dias de incubação ($p < 0,05$).

Ao analisar os dados obtidos entre os grupos de tratamento por dia de incubação, é possível afirmar que o CBX, SGPd e SGPo divergiram do controle após o dia 2 ($p < 0,05$). Observou-se que este comportamento teve predomínio até o último dia de incubação. De modo geral, o CBX foi mais efetivo do que o SGPd e o SGPo após 4 dias de incubação ($p < 0,05$). Embora o SGPd tenha manifestado efeito inibitório mais expressivo do que o SGPo no início da incubação, os mesmos finalizaram o tempo com igual efeito inibitório ($p < 0,05$).

Figura 13 – Crescimento micelial radial (mm) da cepa *Aspergillus flavus* AS118 na presença e ausência das drogas-teste (SGPd, SGPo e CBX).



Fonte: Autoria própria, 2023.

AS: *Aspergillus flavus*; SGPd: Substrato Gasto de *Pleurotus djamor*; SGPo: Substrato Gasto de *Pleurotus ostreatus*; CBX: Carboxin.

O conjunto de células que formam as hifas se denomina micélio. O crescimento fúngico compreende o transporte, absorção de nutrientes e integração aos componentes intracelulares, seguido de divisão celular e consecutivo aumento da biomassa fúngica (Lacaz *et al.*, 1998; Walker; White, 2005). Além disso, notou-se que a temperatura, pH e meio de cultura são uns dos fatores que afetaram o crescimento micelial. Portanto, a interação entre tais fatores dentro do substrato é imprescindível (Owaid; Al-Saeedi; Al-Assaffii, 2017; Hamad *et al.*, 2023).

Tian *et al.* (2012) observaram que há atividade antifúngica do óleo essencial extraído da casca de *Cinnamomum jensenianum* contra o *A. flavus*, os achados corroboram com esta pesquisa, visto que houve redução acentuada no crescimento micelial mediante aumento da concentração do óleo essencial, o qual é um composto natural. No entanto, houve aumento com o tempo de incubação.

Considerando a variável tempo, um teste de atividade antifúngica do óleo essencial de folhas de *Hyptis suaveolens* sobre o crescimento micelial radial de *Aspergillus fumigatus* e *Aspergillus parasiticus*, em 14 dias de exposição, demonstrou 100% de letalidade nas concentrações de 40 e 80 $\mu\text{L/mL}$. Contudo, em 20 $\mu\text{L/mL}$ apresentou leve aumento no crescimento micelial durante o mesmo período (Moreira *et al.*, 2010).

Observou-se redução do crescimento micelial de *Exserohilum turcicum* e *Colletotrichum sublineolum* no uso do extrato aquoso de *L. edodes* (Piccinin; Di Piero; Pascholati, 2010). Com isso, evidencia o potencial dos cogumelos no controle de fitopatógenos e incentiva o desenvolvimento de novas pesquisas que objetivem a utilização de compostos com baixo impacto ambiental.

Patel, Naraian e Singh (2012) evidenciaram atividade inibitória no crescimento de *C. albicans*, *C. glabrata*, espécies de *Trichophyton* e *Epidermophyton* ao utilizar o extrato metanólico da espécie *Pleurotus*. Além disso, foi constatado que, a partir de um peptídeo antifúngico de corpos de frutificação de *Pleurotus eryngii*, houve inibição do crescimento micelial de fungos patogênicos (Wang; Eryngin, 2004).

Destarte, antecedendo o uso sustentável do substrato de SGPd e SGPo, a ação dos óleos era fundamentada, como expõe Hamad e colaboradores (2023): o óleo essencial de *Origanum majorana* L. apresenta capacidade antifúngica *in vitro* e *in situ* na inibição de aflatoxinas B1, indicando potencial promissor como conservante alimentar contra micotoxinas.

Está descrito na literatura que o uso de extratos naturais apresenta uma abordagem vital na inibição do crescimento de fungos e na produção de micotoxinas (Hamad *et al.*, 2023). Diante disso, foi evidenciado que *P. ostreatus* produz p-anisaldeído, o qual proporciona atividade antibacteriana e antifúngica sendo um possível mecanismo de defesa contra microrganismos (Parameswari; Chinnaswamy, 2011).

Os resultados do presente trabalho demonstram o potencial do cogumelo *Pleurotus* spp. para o controle de fitopatógenos e encorajam a realização de novas pesquisas buscando compostos de baixo impacto ambiental que possam ser empregados no manejo integrado de doenças de plantas.

Portanto, a extração dos componentes bioativos do SG pode ser uma alternativa confiável para o desenvolvimento sustentável da indústria de cogumelos (He *et al.*, 2016). Dessa maneira, é relevante considerar a utilização do extrato de SG de cogumelo *Pleurotus* spp. como alternativa ao uso indiscriminado de agrotóxicos no controle do *A. flavus*. Tendo em vista a minimização de intoxicação dos consumidores e o aparecimento de patógenos resistentes a fungicidas.

6 CONCLUSÃO

O uso do SGPd e SGPo para controle do crescimento de fungos e na conservação de alimentos é uma alternativa sustentável promissora. Visto que os extratos hidroalcólicos de SGPd e SGPo apresentaram forte potencial de atividade antifúngica *in vitro*, além de apresentar volatilidade e facilidade de obtenção. No presente trabalho, SGPd e SGPo revelaram seu potencial antifúngico frente as cepas de *Aspergillus flavus*: AS18, AS29, AS35, AS101, AS103 e AS118. O estudo realizado com a cepa AS35 mostrou maior eficácia do extrato de SGPd e SGPo quando comparado com a utilização destes extratos frente a cepa AS118, indicando que a eficácia antifúngica pode variar a depender da cepa. Vale ressaltar que o SGPo teve melhor eficácia do que o SGPd em ambas as cepas.

A crescente procura por estratégias inovadoras em produtos alimentícios com potencial biotecnológico atrelado ao desenvolvimento econômico, social e preservação ambiental, no uso de métodos sustentáveis, são uns dos fatores responsáveis pelo destaque destes extratos, os quais podem ser uma alternativa aos fungicidas sintéticos. Reforça-se a importância do desenvolvimento de outros estudos para avaliar o mecanismo de ação dos extratos de SGPd e SGPo frente a outras espécies de fungos contaminantes de alimentos e sua possível aplicabilidade na indústria de alimentos como alternativa sustentável para reduzir o uso de conservantes químicos que tanto agredem o meio ambiente.

REFERÊNCIAS

- ABBASZADEH, S.; SHARIFZADEH, A.; SHOKRI, H.; KHOSRAVI, A. R.; ABBASZADEH, A. Antifungal efficacy of thymol, carvacrol, eugenol and menthol as alternative agents to control the growth of food-relevant fungi. **Journal de Mycologie Médicale**, v. 24, n. 2, p. 51–56, 1 jun. 2014.
- AHMAD, F. Z.; ISA, R. M.; SUEB, M. S. M.; ISHA, R. Growth performance and mineral analysis of *Pleurotus ostreatus* (oyster mushroom) cultivated on spent mushroom medium mixed with rubber tree sawdust. **Materials Today: Proceedings**, v. 57, p. 1329–1337, 1 jan. 2022.
- ALVES, E.; KUBOTA, E. H. Conteúdo de fenólicos, flavonoides totais e atividade antioxidante de amostras de própolis comerciais. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 34, n. 1, 2013.
- ANDRADE, S. C. A.; ANDRADE, S. C.; BARETTO, T. A.; ARCANJO, N. M.; MADRUGA, M. S.; MEIRELES, B.; CORDEIRO, Â. M.; MAGNANI, M. Control of *Rhizopus* soft rot and quality responses in plums (*Prunus domestica* L.) coated with gum arabic, oregano and rosemary essential oils. **Journal of Food Processing and Preservation**, p. 1-14, 2017.
- ANGELINI, P.; PELEGRINO, R. M.; TIRILLINI, B.; FLORES, G. A.; ALABED, H. B.; IANNI, F.; BLASI, F.; COSIGNANI, L.; VENANZONI, R.; ORLANDO, G.; MENGHINI, L.; FERRANTE, C. Metabolomic profiling and biological activities of *Pleurotus columbinus* Quél. Cultivated on different agri-food byproducts. **Antibiotics**, v. 10, n. 10, p. 1245, 2021.
- ANJU, S.; KUMAR, N. S.; KRISHNAKUMAR, B.; KUMAR, B. D. Synergistic combination of violacein and azoles that leads to enhanced killing of major human pathogenic dermatophytic fungi *Thyrophyton rubrum*. **Journal in Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 5, 2015.
- ARENDRUP, M. C.; CUENCA-ESTRELLA, M.; LASS-FLÖRL, C.; HOPE, W.; HOWARD, S. J. EUCAST Definitive Document E.DEF 9.3.2: **Method for the determination of broth dilution minimum inhibitory concentrations of antifungal agents for conidia forming moulds**. 2020.
- ATALLAH, E.; ZEAITER, J.; AHMAD, M. N.; LEAHY, J. J.; KWAPINSKI, W. Hydrothermal carbonization of spent mushroom compost waste compared against torrefaction and pyrolysis. **Fuel Processing Technology**, v. 216, p. 106795, 1 jun. 2021.
- AYESHA, M. S.; SURYANARAYANAN, T. S.; NATARAJA, K. N.; PRASAD, S. R.; SHAANKER, R. U. Seed treatment with systemic fungicides: time for review. **Frontiers in Plant Science**, Frontiers Media SA, v. 12, p. 654512, 2021.
- BALTUSSEN, T. J.; ZOLL, J.; VERWEIJ, P. E.; MELCHERS, W. J. Molecular Mechanisms of Conidial Germination in *Aspergillus* spp. **Microbiology and molecular biology reviews: MMBR** vol. 84,1 e00049-19. 4 Dec. 2019, doi:10.1128/MMBR.00049-19.
- BATTILANI, P.; TOSCANO, P.; VAN DER FELS-KLERX, H. J.; MORETTI, A.; LEGGIERI, M. C.; BRERA, C.; RORTAIS, A.; GOUMPERIS, T.; ROBINSON, T. Aflatoxin

B1 contamination in maize in Europe increases due to climate change. **Scientific reports**, v. 6, p. 24328, 2016.

BELLETTINI, M. B.; FIORDA, F. A.; MAIEVES, H.; TEIXEIRA, G.; HORNING, S. A. P. S.; MACCARI-JÚNIOR, A.; RIBANI, R. H. Factors affecting mushroom *Pleurotus* spp. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 26, n. 4, p. 633-646, 2019.

TAHEUR, F. B.; MANSOUR, C.; KOUIDHI, B.; CHAIEB, K. Use of lactic acid bacteria for the inhibition of *Aspergillus flavus* and *Aspergillus carbonarius* growth and mycotoxin production. **Toxicon**, v. 166, p. 15–23, 1 ago. 2019.

BONALDO, S. M.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; STANGARLIN, J. R.; CRUZ, M. E. S.; FIORI-TUTIDA, A. C. G. Contribution for the study of antifungal and phytoalexins elicitors in sorghum and soybean activities by eucalyptus (*Eucalyptus citriodora*). **Summa Phytopathologica**, v. 33, p. 383-387, 2007.

BRAUER, V. S.; REZENDE, C. P.; PESSONI, A. M.; PAULA, R. G.; RANGAPPA, K. S.; NAYAKA, S. C.; GUPTA, V. K.; ALMEIDA, F. Antifungal agents in agriculture: Friends and foes of public health. **Biomolecules**, MDPI, v. 9, n. 10, p. 521, 2019.

CARRASCO-CABRERA, C. P.; BELL, T. L.; KERTESZ, M. A. Metabolismo da cafeína durante o cultivo de cogumelo ostra (*Pleurotus ostreatus*) com borra de café residual. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 103, n. 14, p. 5831–5841, 21 jul. 2019.

CARVALHO, C. S. M.; AGUIAR, L. V. B. D.; SALES-CAMPOS, C.; MINHONI, M. T. D. A.; ANDRADE, M. C. N. D. Applicability of the use of waste from different banana cultivars for the cultivation of the oyster mushroom. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 43, n. 2, p. 819–826, abr. 2012.

CORRÊA, R. C. G.; BRUGNARI, T.; BRACHT, A.; PERALTA, R. M.; FERREIRA, I. C. Biotechnological, nutritional and therapeutic uses of *Pleurotus* spp. (Oyster mushroom) related with its chemical composition: A review on the past decade findings. **Trends in Food Science & Technology**, v. 50, p. 103-117, 2016.

DALEY, D. K.; BROWN, K. J.; BADAL, S. Fungal metabolites. In: **Pharmacognosy. Academic Press**, 2017. p. 413-421.

DIJKSTERHUIS, J. The fungal spore and food spoilage. **Current opinion in food science**, v. 17, p. 68-74, 2017.

EL SHEIKHA, A. F.; HU, D.-M. How to trace the geographic origin of mushrooms? Trends in **Food Science & Technology**, v. 78, p. 292–303, ago. 2018.

ELLIS, D. *Aspergillus*. **Mycology. The University of Adelaide**. 2017. Disponível em: <<https://www.adelaide.edu.au/mycology/fungal-descriptions-and-antifungal-susceptibility/hyphomycetes-conidial-moulds/aspergillus#aspergillus-flavus-complex>>. Acesso em: 29/07/2023.

FLORES, G. A.; GIROMETTA, C. E.; CUSUMANO, G.; ANGELINI, P.; TIRILLINI, B.; IANNI, F.; BLASI, F.; COSIGNANI, L.; PELEGRINO, R. M.; EMILIANI, C.; VENANZONI,

R. VENTURELLA, G.; COLASUONNO, P.; CIRLINCIONE, F.; GARGANO, M. L.; ZENGIN, G.; ACQUAVIVA, A.; SIMONE, S. C.; ORLANDO, G.; MENGHINI, L. Untargeted Metabolomics Used to Describe the Chemical Composition, Antioxidant and Antimicrobial Effects of Extracts from *Pleurotus* spp. Mycelium Grown in Different Culture Media. **Antibiotics**, v. 11, n. 11, p. 1468, 2022.

FUJITA, R.; YAKONO, M.; UBE, N.; OKUDA, Y.; USHIJIMA, S.; FUKUSHIMA-SAKUNO, E.; UENO, K.; OSAKI-OKA, K.; ISHIARA, A. Suppression of *Alternaria brassicicola* infection by volatile compounds from spent mushroom substrates. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v. 132, n. 1, p. 25–32, 1 jul. 2021.

GONG, A.-D.; WU, N.-N.; KONG, X.-W.; ZHANG, Y.-M.; HU, M.-J.; GONG, S.-J.; DONG, F.-Y.; WANG, J.-H.; ZHAO, Z.-Y.; LIAO, Y.-C. Inhibitory effect of volatiles emitted from *Alcaligenes faecalis* N1-4 on *Aspergillus flavus* and aflatoxins in storage. **Frontiers in Microbiology**, v. 10, p. 1419, 2019.

HAMAD, G. M.; MEHANY, T.; SIMAL-GANDARA, J.; ABOU-ALELLA, S.; ESUA, O. J.; ABDEL-WAHHAB, M. A.; HAFEZ, E. E. Uma revisão das estratégias inovadoras recentes para controlar micotoxinas em alimentos. **Controle Alimentar**, v. 144, pág. 109350, 2023.

HAZEN, K. C. Fungicidal versus fungistatic activity of terbinafine and itraconazole: Na in vitro comparison. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 38, n. 5 III, 1998.

HE, P.; LI, F.; HUANG, L.; XUE, D.; LIU, W.; XU, C. Chemical characterization and antioxidant activity of polysaccharide extract from spent mushroom substrate of *Pleurotus eryngii*. **Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers**, v. 69, p. 48–53, 1 dez. 2016.

HU, Z.; YUAN, K.; ZHOU, Q.; LU, C.; DU, L.; LIU, F. Mechanism of antifungal activity of *Perilla frutescens* essential oil against *Aspergillus flavus* by transcriptomic analysis. **Food Control**, v. 123, p. 107703, 1 maio 2021.

HYLDGAARD, M.; MYGIND, T.; MEYER, R. L. Essential oils in food preservation: mode of action, synergies, and interactions with food matrix components. **Frontiers in microbiology**, v. 3, 2012.

IBGE- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Censo Agro**, 2017. Disponível em: https://censos.ibge.gov.br/agro/2017/templates/censo_agro/resultadosagro/agricultura.html?localidade=25&tema=76237. Acesso em: 07 de abril de 2022.

IOSSI, M. R.; COBOS, J. D. V.; ALEGRIA, F. J. G.; ZIED, D. C. *Pleurotus* spp. cultivation on *Brachiaria* sp. straw treatment with alkaline water: Oyster mushroom and substrate treatment. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 49, 2018.

ISHIHARA, A.; GOTO, N.; YOSHIKAWA, M.; UBE, N.; USHIJIMA, H.; UENO, M.; UENO, K.; OSAKI, K. Identification of antifungal compounds in the spent mushroom substrate of *Lentinula edodes*. **Journal of Pesticide Science**, v. 43, n. 2, p. 108–113, 2018.

JAIBANGYANG, S.; NASANIT, R.; LIMTONG, S. Biological control of aflatoxin-producing *Aspergillus flavus* by volatile organic compound-producing antagonistic yeasts. **BioControl**, v. 65, p. 377-386, 2020.

KALMIS, E.; AZBAR, N.; YILDIZ, H.; KALYONCU, F. Feasibility of using olive mill effluent (OME) as a wetting agent during the cultivation of oyster mushroom, *Pleurotus ostreatus*, on wheat straw. **Bioresource Technology**, v. 99, n. 1, 2008.

KHAN MSA, A. I. Atividade antifúngica, antielastase e antiqueratinase in vitro de óleos essenciais das espécies *Cinnamomum*, *Syzygium* e *Cymbopogon* contra *Aspergillus fumigatus* e *Trichophyton rubrum*. **Fitomedicina** 19: 48 – 55. 2011.

KOWALSKI, Layza *et al.* Atividade antimicrobiana de flavonoides: uma revisão de literatura. **Revista Interdisciplinar em Ciências da Saúde e Biológicas**, v. 4, n. 1, p. 51-65, 2020.

KUMLA, Jaturong *et al.* Cultivation of mushrooms and their lignocellulolytic enzyme production through the utilization of agro-industrial waste. **Molecules**, v. 25, n. 12, p. 2811, 2020.

LACAZ, Carlos da Silva *et al.* **Guia para identificação: fungos, actinomicetos, algas de interesse médico.** 1998.

LEONG, Y. K. *et al.* Recent advances and future directions on the valorization of spent mushroom substrate (SMS): A review. **Bioresource Technology**, v. 344, p. 126157, 2022b.

LEONG, Y. K. *et al.* Valorization of spent mushroom substrate for low-carbon biofuel production: Recent advances and developments. **Bioresource Technology**, 2022a.

LI, D.-W.; CASTAÑEDA-RUIZ, R. F.; LAMONDIA, J. Evolution of Fungi and Update on Ethnomycology. Em: LI, D.-W. (Ed.). **Biology of Microfungi**. 1. ed. [s.l.] Springer Cham, 2016. v. 1p. 237–266.

LOSS, E. *et al.* Use of maize wastewater for the cultivation of the *Pleurotus* spp. mushroom and optimization of its biological efficiency. **Journal of Hazardous Materials**, v. 166, n. 2–3, 2009.

LOYOLA, R. G. Economía Circular: ¿Un nuevo paradigma en la economía? Circular Economy: A New Paradigm in Economics? **Ambiente, Comportamiento y Sociedad**, v. 4, n. 2, 2022.

MARTÍN, J. C. Economía circular, un nuevo paradigma para nuestras ciudades. **Tiempo de paz**, n. 132, 2019.

MENEZES, C. P. D. Atividade antifúngica in vitro do óleo essencial de *Melissa officinalis* L.(erva-cidreira) sobre *Cladosporium carrionii*. João Pessoa, Dissertação (Programa de Pós-graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos), 124f. 2012.

MICHAEL, R; M. G.; STEPHEN, K; TYRING, B. Introduction to mycology. **Medical Microbiology**, 4ª Ed. Samuel Baron, 1996.

MINTESNOT, B.; AYALEW, A.; KEBEDE, M. Evaluation of biomass of some invasive weed species as substrate for oyster mushroom (*Pleurotus* spp.) cultivation. **Pakistan Journal of Biological Sciences**, v. 17, n. 2, 2014.

MORAES, A. M. L.; PAES, R. A.; HOLANDA, V. L. Micologia. In: MOLINARO, E. M.; CAPUTO, L. F. G.; AMENDOEIRA, M. R. R. **Conceitos e métodos para formação de 49 profissionais em laboratório de saúde**. 4. Ed. Rio de Janeiro: EPSJV; IOC. cap. 4. p. 399-494. 2010.

MORAES, T. S. J.; COSTA, L. M. A. S.; SOUZA, T. P.; COLLELA, C. F.; DIAS, E. S. Fungal and bacterial population from spent mushroom substrate used to cultivate tomato plants. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 44, 2020.

MOREIRA, A.C. P.; LIMA, E. D. O.; WANDERLEY, P. A.; CARMO, E. S.; SOUZA, E. L. D. Chemical composition and antifungal activity of *Hyptis suaveolens* (L.) Poit leaves essential oil against *Aspergillus* species. **Brazilian Journal of Microbiology** vol. 41, p. 28-33, 2010.

NAVALE, V.; VAMKUDOTH, K. R.; AJMERA, S.; DHURI, V. Micotoxinas derivadas de *Aspergillus* em alimentos e no meio ambiente: Prevalência, detecção e toxicidade. **Relatórios de Toxicologia**, v. 8, p. 1008-1030, 2021.

O'REGAN, H. J.; LAMB, A. L.; WILKINSON, D. M. The missing mushrooms: Searching for fungi in ancient human dietary analysis. **Journal of Archaeological Science**, v. 75, p. 139–143, nov. 2016.

OBODAI, M.; CLELAND-OKINE, J.; VOWOTOR, K. A. Comparative study on the growth and yield of *Pleurotus ostreatus* mushroom on different lignocellulosic by-products. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, v. 30, n. 3, 2003.

OCIMATI, W.; WERE, E.; TAZUBA, A. F.; DITA, M.; ZHENG, S. J.; BLOMME, G. Spent substrate of *Pleurotus ostreatus* has potential for managing fusarium wilt of banana. **Journal of Fungi**, v. 7, n. 11, p. 946, 1 nov. 2021.

OLIVEIRA LIMA, M. I.; MEDEIROS, A. A.; SILVA, K. S.; CARDOSO, G. N., OLIVEIRA LIMA, E.; OLIVEIRA PEREIRA, F. Investigation of the antifungal potential of linalool against clinical isolates of fluconazole resistant *Trichophyton rubrum*. **Journal de Mycologie Médicale**, v. 27, n. 2, p. 195–202, 1 jun. 2017.

OLIVEIRA PEREIRA, F.; MENDES, J. M.; OLIVEIRA LIMA, E. Investigation on mechanism of antifungal activity of eugenol against *Trichophyton rubrum*. **Medical Mycology**, v. 51, n. 5, p. 507–513, 2013.

OLIVEIRA, R. C.; CARVAJAL-MORENO, M.; CORREA, B.; ROJO-CALLEJAS, F. (Cellular, physiological and molecular approaches to investigate the antifungal and anti-aflatoxigenic effects of thyme essential oil on *Aspergillus flavus*. **Food Chemistry**, v. 315, p. 126096, 15 jun. 2020.

OWAID, M. N.; AL-SAEEDI, S. S. S. AL-ASSAFFII, I. A. A. Atividade antifúngica de cogumelos ostra cultivados em vários resíduos agrícolas. **Summa Phytopathologica**, v. 43, p. 9-13, 2017.

PARAMESWARI, V.; CHINNASWAMY, P. Um estudo in vitro do efeito inibitório de *Pleurotus florida*, um fungo superior em patógenos humanos. **Journal of Pharmacy Research, Tamilnadu**, v.4, n.6, p.1948-1949, 2011.

PATEL, Y.; NARAIAN, R.; SINGH, V. K. Propriedades medicinais de espécies de *Pleurotus* (cogumelo ostra): uma revisão. **World Journal of Fungal and Plant Biology**, Jaunpur, v.3, n.1, p.1-12, 2012.

PICCININ, E.; DI PIERO, R. M.; PASCHOLATI, S. F. Cogumelo "shiitake" (*Lentinula edodes*) reduz o crescimento de fitopatógenos e a severidade de manchas foliares em sorgo. **Summa Phytopathologica**, v. 36, p. 68-72, 2010.

PLAZAS, I. H. A. Z. **Associação entre fungos e insetos no armazenamento de sementes de trigo (*Triticum aestivum*)**. Dissertação (mestrado em Agricultura Tropical e Subtropical) - Instituto Agrônomo (IAC), Campinas, São Paulo, p. 108, 2002.

PUBCHEM [Internet]. Bethesda (MD): National Library of Medicine (US), National Center for Biotechnology Information; 2004-. PubChem Compound Summary for CID 21307, **Carboxin**. Disponível em: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Carboxin>. Acesso em 07/07/2023.

PUBCHEM [Internet]. Bethesda (MD): National Library of Medicine (US), National Center for Biotechnology Information; 2004-Atualizado em 2023. Resumo do composto PubChem para CID 186907, **Aflatoxina B1**; Disponível em: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Aflatoxin-B1>. Acesso em: 10/09/2023.

QUADROS, A. U.; BINI, D.; PEREIRA, P. A. T.; MORONI, E. G.; MONTEIRO, M. C. Antifungal activity of some cyclooxygenase inhibitors on *Candida albicans*: PGE2-dependent mechanism. **Folia Microbiologica**, v. 56, n. 4, p. 349–352, jul. 2011.

RAHMAN, A.; AL-REZA, S. M.; SIDDIQUI, S. A.; CHANG, T.; KANG, S. C. Antigungal potential os essential oil and ethanol extracts of *lonicera japônica* thuinb. Agoins dermatophytes. **Journal EXCLI**, v. 13, p. 427-436, 2014.

RAMAN, J.; JANG, K. Y.; OH, Y. L.; OH, M.; IM, J. H.; LAKSHMANAN, H.; SABARATNAM, V. Cultivation and Nutritional Value of Prominent *Pleurotus* spp.: Na Overview. **Mycobiology**, v. 49, n. 1, p. 1–14, 2021.

ROYSE, D. J.; BAARS, J.; TAN, Q. Current Overview of Mushroom Production in the World. **Edible and Medicinal Mushrooms**, p. 5–13, 14 ago. 2017.

RUSHING, B. R.; SELIM, M. I. Aflatoxin B1: A review on metabolism, toxicity, occurrence in food, occupational exposure, and detoxification methods. **Food and Chemical Toxicology**, v. 124, p. 81–100, 2019.

SÁNCHEZ, C. Reactive oxygen species and antioxidant properties from mushrooms. **Synthetic and systems biotechnology**, v. 2, n. 1, p. 13-22, 2017.

SÁNCHEZ, J. E.; ZIED, D. C.; ALBERTÓ, E. Edible mushroom production in the Americas. **International conference on mushroom biology and mushroom products**. Shanghai, China, 9 ed., p. 2-11. 2018.

SARDAR, H.; ALI, M. A.; ANJUM, M. A.; NAWAZ, F.; HUSSAIN, S.; NAZ, S.; KARIMI, S. M. Agro-industrial residues influence mineral elements accumulation and nutritional composition of king oyster mushroom (*Pleurotus eryngii*). **Scientia Horticulturae**, v. 225, n. July, p. 327–334, 2017.

SEEKRAM, P.; THAMMASITTIRONG, A.; THAMMASITTIRONG, S. N. R. Evaluation of spent mushroom substrate after cultivation of *Pleurotus ostreatus* as a new raw material for xylooligosaccharides production using crude xylanases from *Aspergillus flavus* KUB2. **Biotech**, v. 11, n. 4, 2021.

SHANMUGAVELU, M.; SEVUGAPERUMAL, G. Screening and Potential Uses of Contaminated Spent Mushroom (*Pleurotus* spp.). **Emerging Contaminants**, 2021.

SHARIF, S.; SHAHID, M.; MUSHTAQ, M.; AKRAM, S.; RASHID, A. Wild mushrooms: A potential source of nutritional and antioxidante attributes with acceptable toxicity. **Preventive Nutrition and Food Science**, v. 22, n. 2, p. 124–130, 2017.

SHARMA, A.; SHARMA, A.; TRIPATHI, A. Biological activities of *Pleurotus* spp. polysaccharides: A review. **Journal of Food Biochemistry**, v. 45, n. 6, p. e13748, 2021.

SHEN, H.-S.; SHAO, S.; CHEN, J. C.; ZHOU, T. Antimicrobials from mushrooms for assuring food safety. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 16, n. 2, p. 316-329, 2017.

SILVA, N. G. **Estudo da Capacidade Antioxidante de Cogumelos Comestíveis**. 2015. Tese de Doutorado. Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, Coimbra, Portugal.

SILVA, T. G. E.; EMERENCIANO, A. C. D. S. J.; MUSETTI, M. A.; OMETTO, A. R. Economia circular: um panorama do estado da arte das políticas públicas no Brasil. **Revista Produção Online**, v. 21, n. 3, 2021.

TAMBE, V. D.; BHAMBAR, R. S. Estimation of Total Phenol, Tannin, Alkaloid and Flavonoid in Hibiscus Tiliaceus Linn. Wood Extracts. **Research & Reviews: Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry**, v. 2, n. 4, p. 41–47, 2014.

TAHEUR, F. B.; MANSOUR, C.; KOUIDHI, B.; CHAIEB, K. Use of lactic acid bacteria for the inhibition of *Aspergillus flavus* and *Aspergillus carbonarius* growth and mycotoxin production. **Toxicon**, v. 166, p. 15-23, 2019.

TIAN, J.; HUANG, B.; LUO, X.; ZENG, H.; BAN, X.; HE, J.; WANG, Y. The control of *Aspergillus flavus* with *Cinnamomum jensenianum* Hand. -Mazz essential oil and its potential use as a food preservative. **Food Chemistry**, v. 130, n. 3, p. 520-527, 2012.

VIEIRA, F. R.; DE ANDRADE, M. C. N. Optimization of substrate preparation for oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) cultivation by studying different raw materials and substrate preparation conditions (composting: phases I and II). **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 32, n. 11, p. 190, 30 nov. 2016.

VIRIATO, V.; MÄKELÄ, M. R.; KOWALCZYK, J. E.; BALLARIN, C. S.; LOIOLA, P. P.; ANDRADE, M. C. Organic residues from agricultural and forest companies in Brazil as useful substrates for cultivation of the edible mushroom *Pleurotus ostreatus*. **Letters in Applied Microbiology**, v. 74, n. 1, p. 44–52, 1 jan. 2022.

MAHARI, W. A. W.; PENG, W.; NAM, W. L.; YANG, H.; LEE, X. Y.; LIEW, R. K.; MA, N. L.; MOHAMMAD, A.; SONNE, C.; VAN, Q.; SHOW, P. L.; CHEN, W.-H.; LAM, S. S. A. review on valorization of oyster mushroom and waste generated in the mushroom cultivation industry. **Journal of Hazardous Materials**, v. 400, p. 123156, dez. 2020.

WANG, H.; NG, T. B. Eryngin, a novel antifungal peptide from fruiting bodies of the edible mushroom *Pleurotus eryngii*. **Peptides**, v. 25, n. 1, p. 1-5, 2004.

YANG, C.; HAMEL, C.; VUJANOVIC, V.; GAN, Y. Fungicide: modes of action and possible impact on nontarget microorganisms. **International Scholarly Research Notices**, Hindawi, v. 2011, 2011.

ZÁRATE-SALAZAR, J. R.; SANTOS, M. N.; CABALLERO, E. N. M.; MARTINS, O. G.; HERRERA, Á. A. P. Use of lignocellulosic corn and rice wastes as substrates for oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus* Jacq.) cultivation. **SN Applied Sciences**, v. 2, n. 11, p. 1–10, 2020.

ZÁRATE, J. R. **Producción y desarrollo de cuatro aislamientos de *Pleurotus ostreatus*, cultivados en restos de cosecha**. 2015. Tese de Doutorado. Tesis de grado. Universidad Nacional Agraria La Molina.