

ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE ISOLADOS DA ESPÉCIE COMESTÍVEL *Lentinula raphanica*

Daniele Rodrigues Silva¹;
Cáritas Farias Loureiro¹;
Noemia Kazue Ishikawa²
Ruby Vargas-Isla³

¹Bolsista, Programa de Iniciação Científica do INPA;

²Pesquisadora COBIO/INPA

³Orientadora, CENBAM/INPA

Financiamento da bolsa: PIBIC/CNPq.

INTRODUÇÃO

Os antibióticos são compostos que, mesmo em pequenas doses, exercem uma ação inibitória contra micro-organismos e na década de 30 foi descoberto o primeiro antibiótico sintetizado, a sulfonamida (Pelczar Jr. *et al.* 1996), especificamente em 1928, Fleming descobriu a Penicilina G iniciando a era da antibioticoterapia (Tavares 2001).

Com a introdução de novos antibióticos no mercado e a utilização exacerbada desses compostos durante as décadas de 50 e 60, contribuíram para que algumas cepas bacterianas adquirissem resistência (Tavares 2014).

Hoje, a resistência bacteriana tornou-se um problema de saúde pública vivenciado por vários países. O uso indevido de antibióticos colabora para que os micro-organismos tornem-se mais resistentes às drogas, elevando os custos médicos, prolongando a estadia hospitalar e aumentando a mortalidade (Organização Mundial da Saúde – OMS 2017). As descobertas de novas fontes de antibióticos com menor toxicidade e uso controlado dos antibióticos são vistos como formas de controle do problema atual. Estudos revelam que os basidiomicetos produzem substâncias químicas com ação antifúngica, antiviral (Brizuela *et al.* 1998), citotóxica, imunossupressora (Rosa *et al.* 2009), antimicrobiana (Alves *et al.* 2012) e tem capacidade de produzir polissacarídeos com propriedades antitumorais e imunestimulante (Lindequist *et al.* 2005; Wasser *et al.* 2002).

A *Lentinula raphanica* (Murril) J.L. Mata & R.H. Petersen, filo dos basidiomicetos é um cogumelo comestível e foi relatado pela primeira vez na Amazônia em 2010 (Capelari *et al.* 2010), pertence ao gênero *Lentinula* Earle, e tem como principal representante a *L. edodes* (Berk.) Pegler, conhecida popularmente como *shiitake*, cogumelo com propriedades nutricionais, medicinais e gastronômicas, sendo o fungo mais estudado deste gênero. A *L. raphanica* é um cogumelo consumido pelo povo indígena Yanomami (Sanöma) (Sanöma *et al.* 2016) e bastante apreciados pelos povos indígenas da Amazônia Colombiana Uitoto e Andoke, pois consideram como um fungo bastante nutritivo, usado na alimentação de crianças, mulheres grávidas e idosos (Vasco-Palacios *et al.* 2008).

Sabendo que os fungos são capazes de produzir compostos antimicrobianos, iniciamos pesquisas por espécies nativas que possam combater cepas de bactérias resistentes. Assim, o objetivo deste trabalho é avaliar a variabilidade de atividade antimicrobiana de isolados da espécie comestível *L. raphanica* contra a bactéria Gram-positiva *Bacillus subtilis* (Ehrenberg) Cohn.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados dez isolados de *L. raphanica*, coletados na Amazônia Central. Os inóculos cultivados em meio batata dextrose ágar (BDA), a 25 °C por 10 dias, com ausência luz, foram retirados

fragmentos de meio com dimensão de 2x2 mm, transferidos para Erlenmeyer contendo meio extrato de malte e peptona. Esses frascos foram mantidos nas temperaturas de 20, 25, 30 e 35 °C, por 30 dias, sem luz. Após isso, obteve-se a massa micelial seca (desidratada em estufa até obtenção de peso constante) e o filtrado. Este foi utilizado na avaliação antimicrobiana contra *B. subtilis*, pelo teste de difusão em ágar (método do pocinho). Os halos formados foram mensurados através da distância entre a borda do halo e a borda do pocinho, com aprox. 10 horas a 4 °C seguido de 8 horas de incubação a 37 °C. Os dados experimentais foram submetidos à análise estatística utilizando o software ASSISTAT 7.6 beta e as médias obtidas foram comparadas pelo teste de Scott-Knott a 1% de significância.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em todas as temperaturas testadas houve crescimento micelial dos isolados, apresentando melhores resultados nas temperaturas de 25 e 30 °C o que também foi observado nos estudos obtidos por Silva *et al.* (2017). O isolado INPACM1816 foi o que apresentou a maior massa micelial a 30 °C (Figura 1).

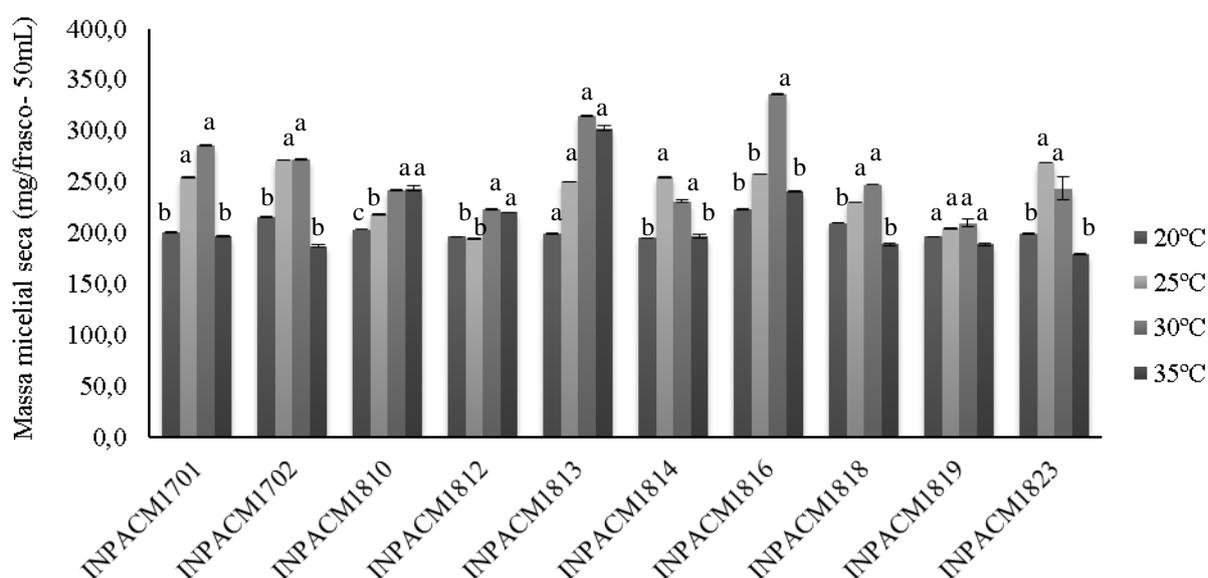


Figura 1. Massa micelial seca de dez isolados de *L. raphanica* mantidos por 30 dias em diferentes temperaturas (20, 25, 30 e 35 °C). A barra em cada coluna indica o desvio padrão. Dados da massa micelial (mg/frasco-50 mL), n=3. Médias com a mesma letra minúscula não diferem significativamente (p<0,01) pelo teste de Scott-Knott.

Todos os isolados de L. raphanica apresentaram atividade antimicrobiana, destacando-se o isolado INPACM1814, o qual apresentou zona de inibição nas quatro temperaturas (20, 25, 30 e 35 °C) (Figura 2 e 3). No entanto, a atividade antibacteriana variou entre os isolados, essa variação na produtividade do composto, pode estar relacionada à variabilidade genética dos isolados ou com a desenvolvimento de cada isolado por uma determinada temperatura (Figura 3) o que pode influenciar na produção de metabolitos antimicrobiano.

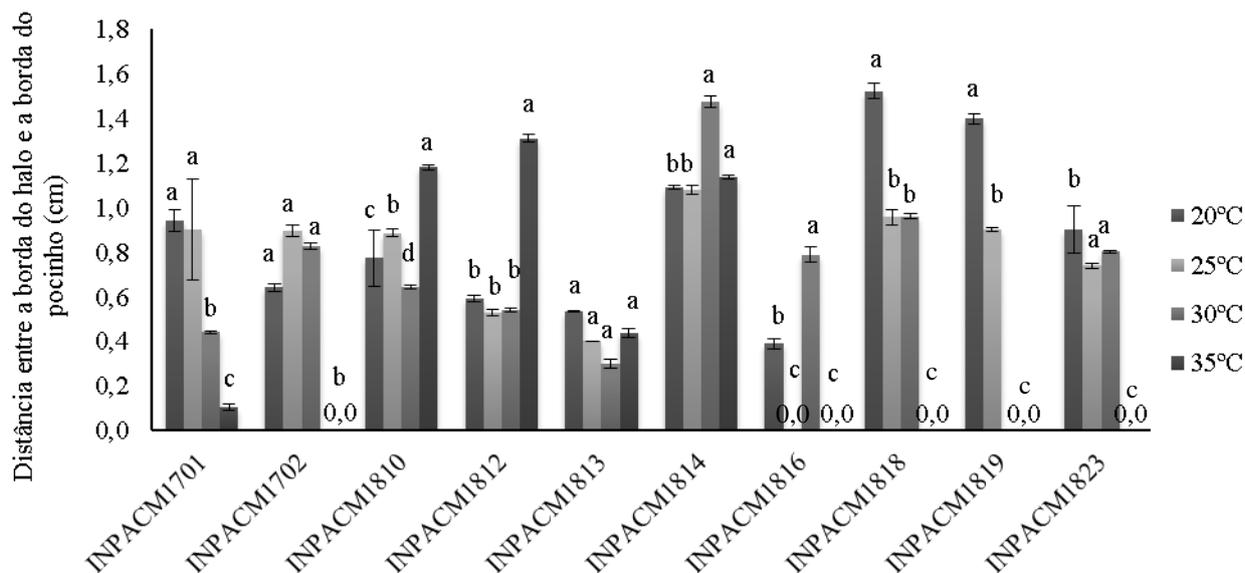


Figura 2. Atividade antibacteriana do filtrado da cultura micelial de dez isolados de *Lentinula raphanica*. Os isolados foram cultivados em Extrato de Malte e Peptona de soja por 30 dias. A atividade antibacteriana do filtrado da cultura contra *B. subtilis* foi avaliada pelo teste de difusão em ágar. A barra em cada coluna indica o desvio padrão. Dados da massa micelial (mg/frasco-50 mL), n=3. Médias com a mesma letra não diferem significativamente ($p < 0,01$) pelo teste de Scott-Knott.

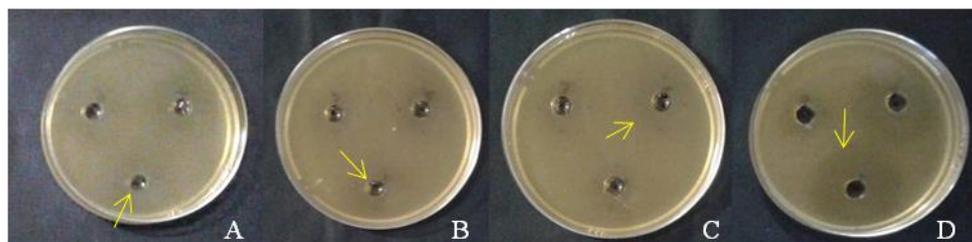


Figura 2. Zona de inibição (setas em amarelo) do filtrado obtido do isolado de *Lentinula raphanica* mantido nas temperaturas: 20 °C (A), 25 °C (B), 30 °C (C) e 35 °C (D). Fotos: D.R. Silva

CONCLUSÃO

A atividade antibacteriana foi observada em todas as temperaturas, havendo uma possível variabilidade genética entre os isolados, isso corrobora para a seleção de isolados mais resistentes a contaminação, para uma futura produção comercial, sendo necessário novas pesquisas para descobrir qual composto bacteriostático é produzido pelo fungo. Esse é o primeiro registro de atividade antimicrobiana de *Lentinula raphanica*.

REFERÊNCIAS

- Alves, M.J.; Ferreira, I.C.F.R.; Dias, J.; Teixeira, V.; Martins, A.; Pintado, M. 2012. A review on antimicrobial activity of mushroom (basidiomycetes) extracts and isolated compounds. *Planta Médica*. 78: 1707–1718.
- Brizuela, M.A.; García, L.; Pérez, L.; Mansur, M. 1998. Basidiomicetos: nueva fuente de metabolitos secundários. *Revista Iberoamericana de Micología*. 15: 69-74.
- Capelari, M.; Asai, T.; Ishikawa, N.K. 2010. Occurrence of *Lentinula raphanica* in Amazonas State, Brazil. *Mycotaxon*. 113: 355-364.
- Lindequist, U.; Niedermeyer, T.H.J.; Julich, W. 2005. The pharmacological potential of mushrooms. *Evidence-Based Complementary and Alternative—eCAM*. 2: 285-299.

- Organização Mundial de Saúde - OMS, 2017. Antibiotic resistance. Disponível em: <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/antibiotic-resistance/en/>>. Acesso em: 13/03/2018.
- Pelczar Jr., Michael J.; Chan, E.C.S.; Krieg, Noel R. 1996. *Microbiologia conceitos e aplicações*. 2ª ed. Makron Books, São Paulo, Brasil. 113 p.
- Rosa, L.H.; Machado, K.M.G.; Rabello, A.L.T.; Souza-Fagundes, E.M.; Correa-Oliveira, R.; Rosa, C.A.; Zani, C.L. 2009. Cytotoxic, immunosuppressive, trypanocidal and antileishmanial activities of Basidiomycota fungi present in Atlantic Rainforest in Brazil. *Antonie van Leeuwenhoek*. 95: 227–237.
- Sanöma, O.I.; Tokimoto, K.; Sanöma, C.; Autouri, J.; Sanöma, L.R.; Sanöma, M.; Martins, M.S.; Menolli Jr., N.; Ishikawa, N.K.; Apiamö, R.M. 2016. *Ana amopö Cogumelos: Enciclopédia dos alimentos Yanomami (Sanöma)*. Instituto Socioambiental, São Paulo. 108 pp.
- Silva, D.R., Bernardo G.S.; Vanconcelos, E.O.; Ishikawa, N.K.; Vargas-Isla, R. Crescimento micelial *in vitro* de isolados de *Lentinula raphanica* coletados na Amazônia. In: VI Congresso de Iniciação Científica do INPA-PIBIC/CNPq/PAIC/FAPEAM, Manaus-AM, 2017.
- Tavares, W. 2001. *Manual de antibióticos e quimioterápicos anti-indecciosos*. Ateneu, São Paulo, Brasil. 37 p.
- Tavares, W. 2014. *Antibióticos e quimioterápicos para o clínico*. Ateneu, São Paulo, Brasil. 3-10 p.
- Vasco-Palacios, A.M.; Suaza, S.C.; Castaño-Betancur, M.; Franco-Molano, A.E. 2008. Conocimiento etnoecológico de los hongos entre los indígenas Uitoto, Muinane y Andoke de la Amazonía Colombiana. *Acta Amazonica*, 38(1): 17-30.
- Wasser, S.P. 2002. Medicinal mushrooms as a source of antitumor and immunomodulating polysaccharides. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 60: 258–274.