



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE FLORESTAS
CURSO DE GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA FLORESTAL

GUILHERME MARTINS NAGY

PRIMEIRO REGISTRO, INTERAÇÃO TRIPARTITE E CULTIVO DE *Phlebopus beniensis*
NO RIO DE JANEIRO

Prof. Dr. RICARDO LUIZ LOURO BERBARA
Orientador

SEROPÉDICA, RJ
JUNHO – 2026



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE FLORESTAS
CURSO DE GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA FLORESTAL

GUILHERME MARTINS NAGY

PRIMEIRO REGISTRO, INTERAÇÃO TRIPARTITE E CULTIVO DE *Phlebopus
beniensis* NO RIO DE JANEIRO

Monografia apresentada ao Curso
de Engenharia Florestal, como requisito
parcial para a obtenção do Título de
Engenheiro Florestal, Instituto de Florestas
da Universidade Federal Rural do Rio de
Janeiro.

Prof. Dr. RICARDO LUIZ LOURO BERBARA
Orientador

SEROPÉDICA, RJ
JUNHO – 2026

**PRIMEIRO REGISTRO, INTERAÇÃO TRIPARTITE E CULTIVO DE
Phlebopus beniensis NO RIO DE JANEIRO**

GUILHERME MARTINS NAGY

APROVADA EM: 19/06/2026

BANCA EXAMINADORA:

Prof. Dr. RICARDO LUIZ LOURO BERBARA – UFRRJ (Orientador)

Documento assinado digitalmente
 RICARDO LUIZ LOURO BERBARA
Data: 25/06/2026 09:25:15-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

SAEL SANCHEZ ELIAS– UFRRJ (Membro)

Documento assinado digitalmente
 SAEL SANCHEZ ELIAS
Data: 01/07/2026 10:41:53-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

SAMUEL DE ABREU LOPES – UFRRJ (Membro)

Documento assinado digitalmente
 SAMUEL DE ABREU LOPES
Data: 30/06/2026 16:54:37-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer a minha mãe Bianca e meu pai Augusto, minhas grandes inspirações e maiores apoiadores, que nunca deixaram de me dizer o quanto eu sou capaz e me incentivaram sempre em todas os caminhos que eu escolhi traçar, sempre estiveram lá para mim e nunca se ausentaram em meus momentos de dificuldade, além de me proporcionar os melhores momentos da minha vida, por vocês eu sou todo amor. Gostaria de agradecer a minha irmã Ana, por ser uma companheira em toda essa jornada que sempre esteve comigo.

Também agradeço imensamente a minha namorada, Alice, que esteve comigo desde o início da minha graduação em Engenharia Florestal e foi meu apoio mais próximo durante os altos e baixos, nunca nem se quer por um segundo desistindo de mim e deixando de acreditar no que há de melhor em nós dois, a sua importância na minha trajetória é também inigualável.

Agradeço também a toda a minha família, incluindo meus avós paternos e maternos, meus tios e tias, meus primos e todos os outros que estiveram presentes durante nossos momentos em família, vocês foram e são a melhor família que qualquer um poderia desejar e por isso sou imensamente grato e sempre irei me lembrar de todos da forma mais especial possível, vocês foram alegria e diversão em todas as datas comemorativas que passamos juntos.

Deixo um agradecimento a todos meus amigos e amigas, que fiz ao longo dos meus estudos no Rio de Janeiro e que me possibilitaram passar por esses momentos da minha vida sempre me sentindo feliz e contente, imaginando o que iríamos fazer em seguida para nos divertir, isso inclui os que fiz no ensino médio e os que fiz na UFRRJ.

Incluo também nesse agradecimento todos aqueles que trabalharam ao meu lado no laboratório Rural Fungi e do Laboratório de Química Biológica do Solo, incluindo meus orientadores e amigos, Sael e Samuel, e ao professor Ricardo Berbara, que sempre que necessário fez-se presente. Acrescento meus amigos que eram estagiários e alunos da pós também, com o qual eu dividi muitas experiências maravilhosas como congressos, eventos científicos, conversas de dia a dia no laboratório, que sempre tinham alguma coisa engraçada para falar enquanto realizávamos nossos experimentos.

Gostaria de agradecer a UFRRJ e todos seus professores, principalmente os do curso de Agronomia e de Engenharia Florestal, todos os técnicos, funcionários do Restaurante Universitário, e outros, que fazem com que a infraestrutura local tenha vida e faça sentido juntos.

Agradeço, por fim, as agências de fomento públicas como o CNPQ, CAPES, FAPERJ, FAPUR e diversas outras, que permitem a realização das pesquisas e aquisição do material e equipamentos necessários e principalmente o pagamento das bolsas de pesquisa, que são um item tão essencial para a manutenção dos estudantes e pesquisadores que desenvolvem a ciência para a sociedade.

RESUMO

A produção de cogumelos é uma alternativa para alívio da pobreza e desnutrição, gerando alimentos nutricionalmente densos com baixa utilização de área, acessível a pequenos produtores por meio de agroresíduos locais. A maior parte do consumo e a produção brasileira restringem-se a poucas espécies introduzidas, embora o país abrigue cerca de 400 espécies comestíveis. Uma delas é *Phlebopus beniensis*, que ocorre em grande parte do território nacional. Seu gênero inclui espécies consideradas iguarias em várias partes do mundo, com representantes cultivados industrialmente na China. A espécie possui importância ecológica por suas relações com plantas e cochonilhas, formando galhas inseto-fungo em raízes, influenciando as plantas associadas. No entanto, há poucos estudos a seu respeito, evidenciando potencial inexplorado. O objetivo deste estudo foi registrar a ocorrência de *P. beniensis* no Rio de Janeiro, descrever as características de seu cultivo *in vitro* e axênico e investigar sua interação ecológica tripartite. Em campo, foram obtidos o esporóforo (identificado macro, microscópica e molecularmente), uma exsiccata da planta associada e as raízes contendo as galhas. A cultura do fungo foi obtida por clonagem de tecidos. Avaliou-se a morfologia da colônia e os efeitos de diferentes temperaturas (20, 25 e 30 °C), pH (4 a 8) e meios de cultura (BDA, PBDA, PLBDA, MEA, BCA, DAS e M1) na taxa de crescimento micelial (cm dia⁻¹), avaliando um fator por vez. Realizou-se tentativa de cultivo axênico com três substratos (serragem, palha+serragem e palha), com camada de solo de cobertura, mas todos foram contaminados por *Trichoderma* sp., permitindo apenas avaliar a taxa de crescimento nos substratos. A análise estatística utilizou ANOVA, teste de Tukey e regressão no software R a 5%. O cogumelo foi identificado como *P. beniensis*, a planta como *Mimosa bimucronata* e as cochonilhas como Pseudococcidae (família), constituindo o primeiro registro de *P. beniensis* no Rio de Janeiro e da interação tripartite entre essas espécies no mundo. A colônia de *P. beniensis* é heterogênea e coriácea, com efeito bactericida observado empiricamente. As maiores taxas de crescimento micelial ocorreram a 30 °C, pH ≤ 6, preferencialmente nos meios BDA ou M1. A taxa de crescimento não diferiu significativamente entre os substratos, embora o tratamento com palha tenha adquirido maior volume, atrasando a colonização completa. Conclui-se que *Phlebopus beniensis* ocorre no estado do Rio de Janeiro, realiza interações ecológicas com *Mimosa bimucronata* e cochonilhas, apresenta maior taxa de crescimento *in vitro* a 30 °C, pH ≤ 6 e nos meios BDA ou M1, e coloniza substratos à base de serragem e palha, sendo suscetível à contaminação por *Trichoderma* sp. Mais estudos são necessários para refinar as condições ideais de cultivo, evitando a contaminação da camada de solo, e de indução à frutificação.

Palavras-chave: *Phlebopus beniensis*, interação tripartite, cultivo *in vitro*.

ABSTRACT

Mushroom production offers an alternative for alleviating poverty and malnutrition by generating nutritionally dense food with low land use, accessible to small-scale producers using local agricultural waste. Most Brazilian consumption and production are limited to a few introduced species, even though the country is home to approximately 400 edible species. One of these is *Phlebopus beniensis*, which occurs throughout most of the country. Its genus includes species considered delicacies in various parts of the world, with representatives cultivated industrially in China. The species is ecologically important due to its relationships with plants and scale insects, forming insect-fungus galls on roots, thereby influencing associated plants. However, few studies have been conducted on it, highlighting its untapped potential. The objective of this study was to record the occurrence of *P. beniensis* in Rio de Janeiro, describe the characteristics of its in vitro and axenic cultivation, and investigate its tripartite ecological interaction. In the field, the sporophore (identified macroscopically, microscopically, and molecularly), a dried specimen of the associated plant, and the roots containing the galls were collected. The fungal culture was obtained by tissue cloning. Colony morphology and the effects of different temperatures (20, 25, and 30 °C), pH (4 to 8), and culture media (BDA, PBDA, PLBDA, MEA, BCA, DAS, and M1) on mycelial growth rate (cm day⁻¹) were evaluated by one-factor-at-a-time method. An attempt at axenic cultivation was made using three substrates (sawdust, straw+sawdust, and straw), with a layer of cover soil, but all were contaminated by *Trichoderma* sp., allowing only the growth rate on the substrates to be evaluated. Statistical analysis used ANOVA, Tukey's test, and regression in R software at the 5% level. The fungus was identified as *P. beniensis*, the plant as *Mimosa bimucronata*, and the mealybugs as Pseudococcidae (family), constituting the first record of *P. beniensis* in Rio de Janeiro and of the tripartite interaction among these species worldwide. The *P. beniensis* colony is heterogeneous and leathery, with a bactericidal effect observed empirically. The highest mycelial growth rates occurred at 30 °C, pH ≤ 6, preferably in BDA or M1 media. The growth rate did not differ significantly among substrates, although the straw treatment acquired greater volume, delaying complete colonization. It is concluded that *Phlebopus beniensis* occurs in the state of Rio de Janeiro, engages in ecological interactions with *Mimosa bimucronata* and mealybugs, exhibits the highest in vitro growth rate at 30 °C, pH ≤ 6, and in BDA or M1 media, and colonizes sawdust- and straw-based substrates, being susceptible to contamination by *Trichoderma* sp. Further studies are needed to refine the optimal conditions for cultivation, avoiding soil layer contamination, and fruiting induction.

Keywords: *Phlebopus beniensis*, tripartite interaction, in vitro cultivation.

Sumário

RESUMO.....	ii
1 INTRODUÇÃO.....	1
2 REVISÃO DE LITERATURA	2
2.1 História e mercado de cogumelos como alimentos	2
2.2 O gênero <i>Phlebopus</i>	3
2.3 A espécie <i>Phlebopus beniensis</i>	3
2.4 Relações ecológicas de <i>Phlebopus</i>	4
2.5 Etnomicologia, comestibilidade e propriedades bromatológicas do gênero ..	6
2.6 O cultivo de <i>Phlebopus</i>	7
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	9
3.1 Prospeção em campo	9
3.2 Coleta, isolamento e preservação de amostras	9
3.3 Extração de DNA e identificação molecular	10
3.4 Avaliação de crescimento do micélio.....	11
3.5 Efeito de diferentes meios de cultura	12
3.6 Efeito de diferentes temperaturas e pHs	12
3.7 Cultivo axênico.....	13
3.8 Análise estatística	13
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	14
4.1 Área de coleta e Identificação Taxonômica	14
4.2 Análise filogenética	16
4.3 Interação tripartite Fungo-Planta-Inseto.....	17
4.4 Colônia cultivada.....	17
4.5 Crescimento do micélio em diferentes temperaturas, pHs e meios de cultura	18
4.6 Cultivo axênico.....	21

4.7	Perspectivas futuras	22
5	CONCLUSÃO.....	22
6	REPEFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	23

1 INTRODUÇÃO

O consumo de cogumelos é realizado pela humanidade há milhares de anos, com registros de ao menos ~ 19.000 anos atrás da alimentação com fungos da ordem *Boletales*, dentre outras ordens (Power *et al.*, 2015). Esse consumo nos dias de hoje é responsável pelo volume expressivo de cogumelos comercializados mundialmente, exemplificado pelos dois países de maior produção de cogumelos e trufas, China e Japão, que chegam a um valor de mercado de respectivamente 50 e 24 bilhões de dólares (FAO, 2024).

No Japão, o número de espécies de cogumelos consumidas chegava, no século 20, a cerca de 300 apenas micorrízicas e, se contando com as saprofíticas o número poderia chegar a 500, sendo que hoje em dia gira em torno de 200 espécies selvagens consumidas e, dessas, apenas 50 espécies foram selecionadas e desenvolvidas para o cultivo comercial ao longo do tempo (Yamada, 2026). No Brasil podemos ter aproximadamente 400 espécies consideradas comestíveis, sendo uma delas *Phlebopus beniensis* (Drewinski *et al.*, 2024; Prado-Elias *et al.*, 2022). Não obstante, em 2013 a produção brasileira de cogumelos totalizava 12.050 t/ano e estava concentrada em 4 espécies, *Agaricus bisporus* com 8.000 t, *Pleurotus ostreatus* com 2000 t, *Lentinula edodes* com 1.500 t e *Agaricus subrufescens* 500 t (Urban *et al.*, 2017).

Apesar da sua atratividade como alimento, o consumo de cogumelos no Brasil ainda é incipiente, Urban *et al.* (2017) reportaram que o habitante médio brasileiro consome algo em torno de 288 g/ano, contra 1,3 kg/ano na Itália, 2,0 kg/ano na França, 4,0 kg/ano na Alemanha e 8,0 kg/ano na China, restando, portanto, espaço para o aumento do consumo e entrada de novas espécies.

Phlebopus é um gênero de fungos inserido na ordem *Boletales*, que forma esporóforos em sua maioria comestíveis, carnudos, de tamanho médio, de distribuição pantropical, com alguns representantes em países temperados (Raghoonundon *et al.*, 2021). Ele possui importância ecológica pois debateu-se sobre seu status micorrízico (Kumla *et al.*, 2016) por fim concluindo que não se trata de micorrízico (Ji *et al.*, 2011) e sim que ele possui capacidade saprofítica e de decomposição da matéria orgânica do solo e realiza interações tripartite entre cochonilhas e plantas, onde forma galhas inseto-fungo sendo por esse motivo também de importância fitopatológica, considerado biotrófico facultativo ou obrigatório (Zhang *et al.*, 2017; Campi *et al.*, 2023). Também possui importância econômica, alimentar e medicinal pois é consumido por populações tradicionais na China, Tailândia, Laos, Paraguai, Argentina dentre muitos outros (Kumla *et al.*, 2020; Łuczaj *et al.*, 2021; Putra *et al.*, 2024; Campi *et al.*, 2023), e é cultivado, através da espécie *P. portentosus*, em larga escala na China, representando uma produção de 16 t dia⁻¹ mas que se projetava para 36 t dia⁻¹ até 2023 (Cao *et al.*, 2021).

A espécie tropical *Phlebopus beniesis* possui registro em território nacional nos estados de São Paulo, Espírito Santo, Goiás, Mato Grosso, Rio Grande do Sul, Santa Catarina (Magnago, 2018) e Paraná (Watling and Meijer, 1997), sem registro formal no Rio de Janeiro, porém agora registrado por este trabalho, e apenas uma descrição de suas interações biotróficas, juntamente com relato de seu consumo por populações tradicionais do Paraguai (Campi *et al.*, 2023). Apesar de sua evidente relevância, o gênero e essa espécie têm seus aspectos agrônômicos, ecológicos e bromatológicos representados por poucos estudos em território brasileiro (Prado-Elias *et al.*, 2022; Barbosa-Silva & Wartchow, 2020; Magnago, 2018; Calaça *et al.*, 2018).

Portanto, exposto o potencial alimentício, cultural e econômico de *Phlebopus beniensis* e considerando que não há seu registro formal na literatura no estado do Rio de Janeiro, tampouco estão suas relações ecológicas totalmente esclarecidas e, também, há uma lacuna na literatura quanto à morfologia e as características do seu cultivo in vitro, o objetivo desse estudo foi registrar a ocorrência de *P. beniensis* no Rio de Janeiro, descrever as características do seu cultivo in vitro e investigar sua interação ecológica tripartite.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 História e mercado de cogumelos como alimentos

A trajetória dos cogumelos e suas relações com a humanidade caminham juntamente com o hábito de forrageamento humano. Isso é evidente pelos registros de consumo de cogumelos da ordem *Boletales* e outros agaricales próximos há ao menos 18.700 anos, no período paleolítico, identificado por pesquisadores ao analisar esporos presentes em cálculos dentais humanos preservados em registros fósseis na Europa (Power *et al.*, 2015).

Com o caminhar da história, as diferentes sociedades adquiriram o hábito micofílico (que ama cogumelos) ou micofóbico (que teme cogumelos), a partir de inferências de experiências e de relatos históricos atribuídos às propriedades dos cogumelos, sejam eles entendidos como transformadores, nutritivos, naturais, tóxicos ou até mesmo divinos (Bertelsen, 2013).

Nos dias de hoje, o cultivo e desenvolvimento do mercado de cogumelos vêm transformando o conhecimento e aceitação popular a respeito, principalmente pela maior compreensão das suas propriedades bromatológicas e farmacológicas e de compostos bioativos únicos que eles contêm, além do desenvolvimento do seu uso em áreas como produção de biomateriais e estruturas, biorremediação, produção de circuitos biológicos, dentre outros. (Roberts, 2022; Stamets, 2005)

O seu uso na alimentação já se demonstrou benéfico apesar de superestimado por diversas vezes. Sua composição, que varia a depender das condições de desenvolvimento, armazenamento, preparo e da espécie em questão, pode ser rica em potássio, fósforo, vitaminas B, fibras como beta-glucanas, moléculas bioativas que desempenham papéis anti-inflamatórios dentre diversos outros e, é baixa em gorduras e em proteína (se comparado in natura com carnes por exemplo) apesar de possuir uma concentração proteica maior que a maioria dos vegetais (Bell *et al.*, 2022).

Com o aumento da busca do consumidor brasileiro por alimentos com baixo teor de gorduras saturadas e colesterol e ricos em nutrientes, devido em parte aos indícios da associação de lipídios saturados e LDL a um maior risco de desenvolvimento de problemas cardiovasculares a longo prazo (FERENCE *et al.*, 2017), há uma oportunidade evidente para o setor de cogumelos comestíveis. Porém, apesar da sua atratividade como alimento, o consumo de cogumelos no Brasil ainda é incipiente. Urban *et al.* (2017) reportaram que o habitante médio brasileiro consome algo em torno de 288 g/ano, contra 1,3 kg/ano na Itália, 2,0 kg/ano na França, 4,0 kg/ano na Alemanha e 8,0 kg/ano na China e que em 2013 a produção total brasileira era de 12.050 t/ano e estava concentrada em 4 espécies, *Agaricus bisporus* com 8.000 t, *Pleurotus ostreatus* com 2000 t, *Lentinula edodes* com 1.500 t, e *Agaricus subrufescens* 500 t (Urban *et al.*, 2017), apesar de hoje saber-se que o Brasil possui ~ 400 espécies comestíveis (Drewinski *et al.*, 2024b).

Já por volta de 1980, diversas universidades agrícolas e escolas técnicas na China formaram seus cursos e departamentos de fungos comestíveis e, de 1985 a 95, a produção de fungos foi listada como item importante no “China Spark Program” levando a grande expansão no que se tornaria o maior mercado de fungos e cogumelos do mundo, com a produção de cogumelos na China saltando de 187.000 t equivalentes a 143 milhões Yuan em 1980 para 4 milhões de toneladas equivalentes a 23 bilhões de Yuan em 1997 (Zhanxi & Zhanhua, 2001). De acordo com dados da FAO (2024) o valor de mercado de cogumelos e trufas da produção da China e Japão, os dois maiores produtores globais, foi respectivamente 50 e 24 bilhões de dólares e abrange até 50 espécies cultivadas no caso do Japão (Yamada, 2026).

2.2 O gênero *Phlebopus*

As espécies do gênero *Phlebopus* (R. Heim) Singer, 1936 fazem parte da família *Boletinellaceae* P.M. Kirk, P.F. Cannon & J.C. que está na ordem *Boletales* E.-J. Gilbert 1931, e é uma família pequena com apenas mais um gênero, *Boletinellus* Murril (Calaça *et al.*, 2018) e compartilham diversas características microscópicas e macroscópicas. As espécies desse gênero encontram-se distribuídas principalmente em regiões tropicais e subtropicais, ocorrem no solo e muitas são comestíveis (Raghoonundon *et al.*, 2021). Ao todo, de acordo com Index Fungorum (2026), existem 18 espécies distintas, sendo *P. roseus* ainda inválido no banco de dados.

Segundo Barbosa-Silva e Wartchow (2020), macroscopicamente, seus basidiomas são robustos e possuem as seguintes características: um píleo glabro ou tomentoso ou aveludado, um estipe espesso e central, não oco e não reticulado com um himenóforo tubular de inserção adnato-deprimida. O contexto do píleo tem coloração pálida, entre o amarelo-oliváceo para amarelo ou creme, apresentando azulamento lento em algumas espécies quando exposto ao ar. Microscopicamente, tem basidiósporos subglobosos a elipsóides, lisos, curtos e com hifas contendo grampos de conexão. As características foram originalmente descritas por Singer, Heinemann e Rammeloo, entre as décadas de 1930 e 1980.

Dessas, ao menos 4 espécies são citadas no Brasil, sendo *P. beniensis* (Singer & Digilio) Heinem. & Rammeloo, 1982, *P. brasiliensis* Singer, 1983, *P. braunii* (Bres.) Heinem., 1951 e *P. tropicus* (Rick) Heinem. & Rammeloo, 1982 (Barbosa-Silva & Wartchow, 2020; Sulzbacher *et al.*, 2013; Neves & Capelari, 2007).

2.3 A espécie *Phlebopus beniensis*

Essa espécie é registrada na região neotropical, mais especificamente na Argentina, Brasil, Costa Rica, Equador, Martinica, Porto Rico, Venezuela, Paraguai e Colômbia (Heinemann & Rammeloo, 1982; Ovrebo, 1983; Pegler, 1983; Singer *et al.*, 1983; Miller *et al.*, 2000; Guzmán *et al.*, 2007; Campi *et al.*, 2023; Carmona-Valencia *et al.*, 2025) e, em território brasileiro, ela possui registro para os biomas da floresta Amazônica, floresta Atlântica e Cerrado, nos estados Espírito Santo, Goiás, Mato Grosso, Rio Grande do Sul, Santa Catarina, Paraíba, Amazonas (Magnago, 2018), São Paulo, Bahia, Pernambuco (Prado-Elias *et al.*, 2022) e Paraná (Watling and Meijer, 1997). Os esporóforos dessa espécie surgem majoritariamente durante as épocas chuvosas do ano, mas não impossibilitados de ocorrerem nos períodos secos após chuvas eventuais, podendo ocorrer tanto em sub-bosque quanto em gramados (Nagy, dados não publicados).

P. beniensis difere das espécies similares *P. braunii* e *P. colossus* por esporos menores, em geral < 7,5 µm, e difere de *P. brasiliensis* pela coloração do píleo sem tons oliváceos e com a predominância de tons marrons, amarelados, avermelhados e, a presença de pleuro ou queilocistídios varia entre diferentes avaliações, sendo encontrados mais próximos à borda dos poros do que no interior dos tubos, muitas vezes relatados como inconspícuos, ou pouco evidentes, restando a incerteza pela possibilidade de confundimento de cistídios com cistídiolos no caso de cistídios não evidentes (Magnago, 2018).

Há um relato de comestibilidade da espécie para o Brasil (Prado-Elias *et al.*, 2022) realizado pelas próprias pesquisadoras e há um relato de consumo por populações tradicionais do Paraguai, que afirmam consumi-lo há mais de 30 anos (Campi *et al.*, 2023). Não existem relatos do seu comportamento e morfologia em meio de cultura in-vitro, tampouco do seu cultivo.

Carmona-Valencia *et al.* (2025) observaram pela primeira vez suas relações ecológicas com cochonilhas da família *Pseudococcidae*, e pela primeira vez com *Coffea* sp., essa relação demonstrou ser prejudicial às plantas e a sua produtividade. Palacio *et al.* (2015) reportou

encontrar a espécie próximo de plantas dos gêneros *Hymanaea*, *Andira* e *Bauhinia* (Fabaceae) em uma reserva florestal na Colômbia, enquanto Sulzbacher *et al.* (2013) a encontraram próxima a *Laguncularia racemosa* (Combretaceae) e *Hibiscus tiliaceus* (Malvaceae).

2.4 Relações ecológicas de *Phlebopus*

O status trófico do gênero *Phlebopus* é motivo de pesquisa há muitos anos, e ainda não está completamente elucidado. A ordem à qual integra, *Boletales*, é conhecida por ter fungos ectomicorrízicos como *Boletus edulis* Bull. (1782) e, alguns trabalhos afirmam que *Phlebopus* pode se tratar de um gênero ectomicorrízico, ou seja, que realiza associações mutualísticas com plantas, sustentado pois *P. portentosus* formou estruturas similares a fungos micorrízicos quando inoculado em espécies como *Pinus kesiya* Royle ex Gordon e seu perfil isotópico para N se aproxima mais de fungos ectomicorrízicos que saprofíticos, apesar de estar entre os dois (Kumla *et al.*, 2016). No entanto, foi demonstrado também que *P. portentosus* e *P. spongiosus* podem crescer e formar basidiomas na ausência de qualquer planta hospedeira, ou seja, obtendo nutrientes de forma saprofítica (Kumla *et al.*, 2012, 2015 e 2020), por conta disso, acredita-se que na realidade a espécie seja uma biotrófica obrigatória ou facultativa e não seja micorrízica.

Esse gênero forma relações tripartite com plantas e cochonilhas. Um dos primeiros registros dessa interação realizado no Brasil, na Baixada Fluminense, por Gonçalves (1940) que observou a presença das ‘criptas’ ou galhas inseto-fungo acometendo *Citrus* sp. (laranjeira) e dando origem ao cogumelo que ele identificou como *P. tropicus*.

No trabalho de Gonçalves (1940), realizou-se uma extensa observação do fenômeno, traçando as primeiras teorias de como se originam as criptas. Segundo ele, as cochonilhas da espécie *Pseudococcus comstocki* Kuwana, 1902 eram conhecidas por habitarem as folhas das laranjeiras e foram confirmadas também dentro de criptas, nas raízes. A presença dessas cochonilhas prejudicava a sua saúde, causando depauperamento, diminuição de produtividade e eventualmente, embora mais raramente, a morte dos vegetais. O autor observou a interação das cochonilhas com formigas-de-fogo (*Solenopsis saevissima* F. Smith) através da complexa proteção oferecida por elas nas folhas e pela construção de formigueiros e galerias. Observou-se o movimento de descida da cochonilha pelo tronco ou transportadas pelas formigas para suas galerias, que são ambientes escuros e mais ou menos protegidos.

Essa espécie de formigas forma basicamente dois tipos de formigueiros, os de colete e os de enxame. Os de colete são localizados na base dos troncos, já os de enxame no entorno dos de colete, ligados por galerias subterrâneas. Em partes, os danos causados aos vegetais se dão também pela presença de formigueiros no colete e por atividades desempenhadas diretamente pelas formigas na planta, como danos às folhas e sucção de seiva. Além disso, o autor cita também outras espécies de cochonilhas e insetos associados à formiga, tanto quanto outras espécies de formigas associadas à cochonilha, mas ambos menos significativos na cultura da laranjeira.

De acordo com Gonçalves (1940), as criptas formadas pelo fungo podem ter de 1 a 50 cm de comprimento e de 1 a 3 cm de diâmetro, com as raízes inclusas, e se formam pela presença das cochonilhas sob consentimento das formigas em uma raiz, que, sob o ato de sucção e exsudação violento de honeydew, uma substância rica em cares simples, nas paredes do entorno, inicia o crescimento do fungo, que possui hifas ou esporos no solo, e envolve com seu micélio os pseudococcus. As criptas desenvolvem-se superficialmente, a até 40 cm de profundidade, sempre nas raízes de 3 – 10 mm, fibrosas, mas nunca nas raízes finas ou nas raízes principais e coleto. Esse ataque pode causar a morte das raízes a partir das raízes mais finas, o que finalmente causa a morte das cochonilhas, apodrecimento das criptas e, por fim, apodrecimento das raízes, embora muitas vezes as criptas não causem a morte do vegetal e possam durar anos.

O autor ainda cita que já foram relatadas criptas contendo espécies de coccídeos como *Coccus viridis* (Green) dentre outras. Não obstante, a sua ocorrência se dá também em outras espécies de plantas, como na cultura da videira (na Palestina), na cultura do café (continente africano e em São Paulo), em raízes de milho (São Paulo) e nas raízes de uma leguminosa silvestre (Nova Iguaçu, Rio de Janeiro). A Figura 1 demonstra as criptas e os esporóforos reportados por Gonçalves (1940).

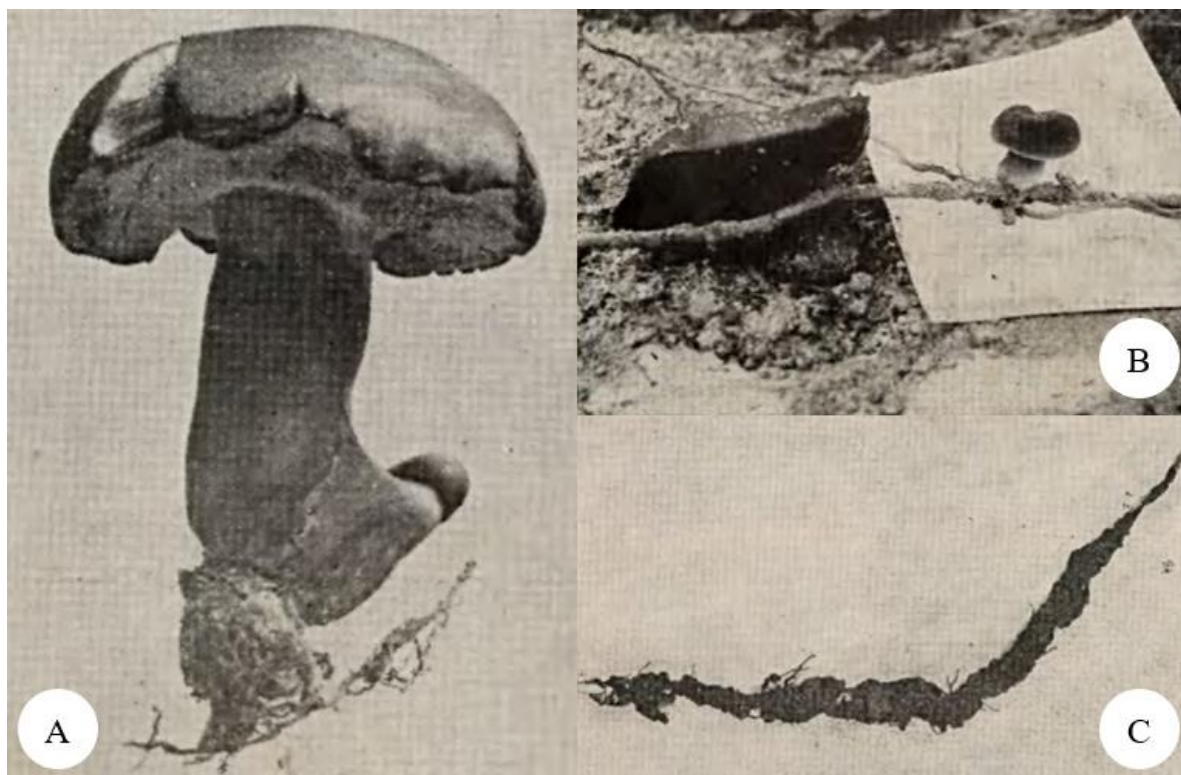


Figura 1. Presença de *Phlebopus tropicus* em raízes de *Citrus* sp. (A) Esporóforo de *P. tropicus*. (B) Esporóforo de *P. tropicus* sob criptas em raízes de *Citrus* sp., à esquerda, esporóforo maior proveniente de outra cripta subterrânea. (C) Criptas envolvendo raízes de *Citrus* sp. (Município de Nova Iguaçu, Rio de Janeiro). Fonte: Adaptado de Gonçalves (1940).

Outros autores também reportaram o fenômeno mais tarde, de acordo com Carmona-Valencia *et al.* (2025) a formação de galhas inseto-fungo pela espécie *P. beniensis* e *Pseudococcus elisae*, *Dysmicoccus neobrevipes*, *D. brevipes*, and *Pseudococcus nr. sociabilis* afeta a cultura cafeeira pois impede a absorção de nutrientes e água por parte das raízes que, combinado a atividade de sucção das cochonilhas, podem causar clorose, defoliação e até mesmo morte do vegetal. Na Colômbia, três espécies de Pseudococcidae estão associados a fungos basidiomicetos, sendo *Dysmicoccus texensis* (Tinsley, 1900), *Pseudococcus elisae* Borchsenius, 1947, e *Pseudococcus jackbeardsleyi* Gimpel & Miller, 1996.

Foram relatados também a formação de esclerócios, ou seja, estruturas formadas pelo enovelamento do micélio com função de sobrevivência em períodos de condições desfavoráveis como estiagem, sem a presença de insetos dentro, em condições artificiais e naturais (Yang *et al.*, 2023). Portanto, acredita-se que o gênero *Phlebopus* pode obter recursos a partir de diferentes estratégias, ligadas ou não a uma planta e/ou inseto hospedeiros, podendo eventualmente causar efeitos negativos a plantas.

A espécie *P. portentosus* possui relato de interações tripartite envolvendo ao menos 37 espécies de plantas, 13 espécies de cochonilhas em quatro diferentes continentes e diversos países (Carmona-Valência *et al.*, 2025; Bandala *et al.*, 2004). Zhang *et al.* (2017) reportaram

que *P. portentosus* tem preferência por solos com pH de 4,5 a 6,5 e ocorre majoritariamente na época chuvosa.

2.5 Etnomicologia, comestibilidade e propriedades bromatológicas do gênero

Dentro do gênero *Phlebopus*, atualmente ao menos 8 espécies são consideradas comestíveis, sendo *P. braunii* (Bres.) Heinem. 1951; *P. bruchii* (Speg.) Heineman & Rammeloo; *P. beniensis* (Singer & Digilio) Heinem. & Rammeloo; *P. marginatus* Watling & N.M. Greg.; *P. portentosus* (Berk. & Broome) Boedijn; *P. roseus* M. Yang, C.-Y. Liu & Y. Wang; *P. spongiosus* Pham & Har. Takah; e *P. sudanicus* (Har. & Pat.) Heinem, como representado na Tabela 1.

Tabela 1 – Espécies de *Phlebopus* indicadas como comestíveis seus nomes populares e regiões de consumo.

Espécie	Nome popular	Região de consumo	Referência
<i>P. roseus</i>	-	China	Mei <i>et al.</i> (2020)
<i>P. spongiosus</i>	-	Vietnã; Tailândia	Nhi <i>et al.</i> (2017)
<i>P. bruchii</i>	Hongo de Coco	Argentina	Deschamps e Moreno (1999)
<i>P. portentosus</i>	Black boletus	China, Tailândia, Laos e Indonésia	Zhang <i>et al.</i> 2017, Kumla <i>et al.</i> 2020, Łuczaj <i>et al.</i> 2021, Putra <i>et al.</i> (2024)
<i>P. beniensis</i>	Chapéu-de-baiano	Brasil, Paraguai	Prado-Elias <i>et al.</i> (2022), Campi <i>et al.</i> (2023)
<i>P. sudanicus</i>	la viande des Bobos	Africa	Guisso; Sankara & Guinko (2005), Ducouso (2003)
<i>P. marginatus</i>	-	India	Naik; Naika (2021)
<i>P. braunii</i>	-	Argentina	Nohura (1999) apud Campi (2023)

Fonte: Autor

Nos países asiáticos, *P. portentosus* é considerado uma iguaria, sendo muito apreciado por formar esporóforos grandes e pelo seu sabor, o que o tornou um favorito das cozinhas locais (Mortimer *et al.*, 2012). Zhang *et al.* (2017) relataram que em Yunnan, China, a coleta extrativista desse cogumelo pode gerar em torno de US\$9.000/ano, e render de 10-20 kg ao dia durante a estação dos cogumelos (chuvosa) e, em um pomar de *Eriobotrya japonica* (Thunb.) Lindl (Nesperas) de 7 ha na temporada chuvosa é possível colher de 100-150 kg por dia, podendo gerar até US\$15.000 ao ano sendo uma fonte de renda importante para os agricultores locais em ao menos 20 regiões do sul da China.

P. beniensis é considerada uma espécie comestível, apesar de existirem poucos relatos de sua comestibilidade, com apenas dois recentes no Brasil e um no Paraguai (Prado-Elias *et al.*, 2022; Menolli *et al.*, 2025; Campi *et al.*, 2023).

No continente africano, populações locais de Burkina Faso e Senegal realizam o consumo, secagem e armazenamento de *P. sudanicus*, apesar de existirem debates sobre sua comestibilidade (Guissou *et al.* 2015).

Deschamps e Moreno (1999) relataram que *P. bruchii* é consumido por populações indígenas e locais, associado à árvore *Zanthoxylum coco* Gillies ex Hook. f. & Arn. Além disso, essa espécie é a única do gênero listada na Lista Vermelha da IUCN para espécies ameaçadas, na categoria CR, ou criticamente ameaçada, por ser a única espécie silvestre de fungo relatada como coletada por essas populações locais, além de ter sofrido uma perda de até 90% dos fragmentos florestais onde ocorre (Robledo *et al.*, 2022).

Já a respeito das suas propriedades bromatológicas, cogumelos do gênero *Phlebopus* estão próximos de outras espécies de cogumelos. Pode-se observar uma quantidade de proteína bruta por vezes quase o dobro das espécies comuns, para *P. beniensis* e *P. colossus*, já *P. portentosus* e *P. spongiosus* ficaram um pouco abaixo. Essas características variam com as condições ambientais, de ponto de colheita, dentre muitas outras, e são apenas para fins de comparação. Todos são baixos em gorduras e calorias. O valor nutricional de alguns cogumelos do gênero em comparação com espécies comumente encontradas no Brasil encontra-se na Tabela 2.

Tabela 2. Comparação da composição aproximada em base seca (% do peso seco) de espécies comestíveis secas de *Phlebopus* e espécies comumente encontradas no Brasil.

Cogumelos desidratados	Cogumelos comuns no Brasil*	<i>P. beniensis</i> Paraguai	<i>P. colossus</i> Tailândia	<i>P. portentosus</i> Tailândia	<i>P. spongiosus</i> Tailândia
Referências	Rocha <i>et al.</i> (2025)	Campi <i>et al.</i> (2023)	Liaotrakoon & Liaotrakoon (2018)	Kumla <i>et al.</i> (2021)	Kumla <i>et al.</i> (2022)
Umidade	90 – 94	91.66 ± 0.3	93.1 ± 0.0	82.7 ± 2	–
Cinzas	6 – 12	13 ± 2.06	10.1 ± 0.0	9.6 ± 0.2	9.59 ± 0.30
Proteína bruta	16 – 22	39.2	38 ± 0.2	19.6 ± 0.4	28.03 ± 0.93
Gordura	2,5 – 3	4 ± 0.14	1.4 ± 0.0	1.0 ± 0.1	2.15 ± 0.09
Fibra alimentar	17 - 43	20.05 ± 0.0	–	–	–
Fibra bruta	–	–	5.8 ± 0.1	6.3 ± 1	6.67 ± 0.3
Carboidratos	30 – 51	13.5 ± 0.5*	44.9 ± 0.1**	54.8 ± 0.7**	50.86 ± 1.19**
Valor energético kcal/100 g	200 – 300	245	344.2***	306.6***	334.9***

*Faixa para fins de comparação de *Lentinula edodes* (Shiitake), *Agaricus bisporus* (Champignon) e *Pleurotus ostreatus* (Shimeji). ** métodos diferentes dos empregados por Campi *et al.* e *** calculado por Campi *et al.* Adaptado de Campi *et al.*, (2023)

2.6 O cultivo de *Phlebopus*

O cultivo da espécie *P. portentosus* para comercialização e consumo é realizado na China, com cogumelos produzidos artificialmente sob cultivo protegido e inoculação em campo (consórcio entre frutas e cogumelos) graças ao desenvolvimento de tecnologias pioneiras pelo Yunnan Institute of Tropical Crops of Jinghong, China, desde 2003 (Zhang *et al.*, 2017; Ji *et*

al., 2009) sendo a primeira espécie da ordem Boletales a ser cultivada, com ao menos 25 anos de pesquisa realizada (Cao *et al.*, 2021).

O cultivo de *P. portentosus* é realizado principalmente em sacos de polipropileno ou potes reutilizáveis, contendo entre 800 e 1300 g de substrato, composto por uma mistura, que passa ou não por processo de compostagem, de fontes de carbono, nitrogênio e aditivos como MgSO_4 e KH_2PO_4 e CaCO_3 , geralmente empregando serragem, palha, raspas de madeira e bagaços como fontes ricas em carbono e farelos, fertilizantes minerais, grãos, dentre outros como fontes de nitrogênio. O crescimento do seu micélio é considerado lento levando em torno de 40 a 50 dias para colonização do substrato, que então deve ser coberto por uma camada de solo ou substrato de cobertura. O substrato de cobertura, doravante denominado 'casing', geralmente é composto por materiais como solo vermelho, turfa, solo de pomar, solo de horta, dentre outros, misturados a materiais orgânicos como turfa. Há formulações de casing que envolvem um tipo de solo compostado, utilizando solo e esterco, junto a aditivos frequentes, MgSO_4 e KH_2PO_4 (Hu *et al.*, 2017).

Nos primeiros ensaios de cultivo de *P. portentosus* Ji *et al.* (2011) testaram diferentes solos não esterilizados: solo vermelho não cultivado, solo de pomar de manga e solo de jardim. O solo de jardim foi superior, produzindo basidiocarpos com peso médio de 134,43 g, seguido pelo solo de pomar (70,14 g) e pelo solo vermelho (21,43 g). Em vasos, a frutificação ocorreu tanto na presença quanto na ausência de plantas hospedeiras, comprovando o caráter sapróbio da espécie. Nenhum dos solos foi esterilizado.

Não obstante, diversas patentes chinesas descrevem formulações de casing para o cultivo de *Phlebopus portentosus*. Ji *et al.* (2012) propuseram um casing composto por solo de floresta, horta ou pomar fermentado com esterco de galinha e de boi, misturado a turfa e enriquecido com uma solução nutritiva à base de caldo de batata, açúcar, extrato de levedura, MgSO_4 e KH_2PO_4 . Já Wang *et al.* (2015) desenvolveram uma solução nutritiva contendo caldo de batata, MgSO_4 , KH_2PO_4 , FeSO_4 , vitamina B₁, extrato de levedura e açúcar, que é pulverizada diretamente sobre o casing para promover o crescimento micelial e inibir contaminantes.

Existe inclusive a possibilidade de um sistema de casing composto exclusivamente por solo vermelho de subsolo (coletado a mais de 30 cm de profundidade) combinado a uma solução nutritiva enriquecida com mel, extrato de levedura, sais, tartarato de amônio e azeite de oliva, cuja película lipídica atua como barreira física contra fungos contaminantes (Wang *et al.*, 2017).

Para além do cultivo de *P. portentosus* em ambiente controlado (sacos, garrafas ou toras de serragem com casing), a patente Jiang *et al.* (2024) propõe um método em campo. A técnica consiste em selecionar uma área com árvores de *Ficus* sp. ou *Sesbania* sp. e aplicar sobre as raízes superficiais dessas árvores um fermentado líquido preparado a partir de basidiocarpos frescos de *P. portentosus*, arroz orgânico, açúcar mascavo e água, fermentado por 4 semanas com agitação periódica. O solo não é esterilizado, sendo aplicado diretamente no campo com irrigação de 3–5 L por árvore, mantendo-se a umidade do solo entre 80 - 90% e aguardando-se 3–6 meses para a colheita. A patente não menciona a aplicação de tratamentos antifúngicos sobre o solo, contando com as condições ambientais e a microbiota natural do campo para o desenvolvimento do fungo.

Yang *et al.* (2024) escreve um método inovador no qual se cultivam mudas de plantas hospedeiras diretamente em áreas onde *P. portentosus* já ocorre naturalmente ou em sítios de cultivo estabelecidos. Após 2 a 3,5 meses, as mudas desenvolvem raízes já colonizadas por micélio ou estruturas de galhas ou criptas, dispensando nova inoculação após o transplantio. O método alcança taxas de frutificação superiores a 95% e permite produção contínua por anos, reduzindo custos operacionais.

Semelhante a *P. portentosus* no continente asiático, *P. beniensis*, devido às suas características nutritivas e sabor agradável (Campi *et al.*, 2026), possui potencial para ser consumida e cultivada em território brasileiro, portanto, seu cultivo deve ser desenvolvido.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Prospecção em campo

No final de outubro de 2024, no início da época das chuvas, foi realizada a expedição para a coleta do cogumelo. A prospecção do basidioma foi realizada em Seropédica, estado do Rio de Janeiro, dentro de uma área de baixada do campus da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), em uma região com um fragmento de capoeira envolto por pastagens (22°46'14"S 43°40'44"W), com predomínio do gênero *Mimosa* (Figura 2).

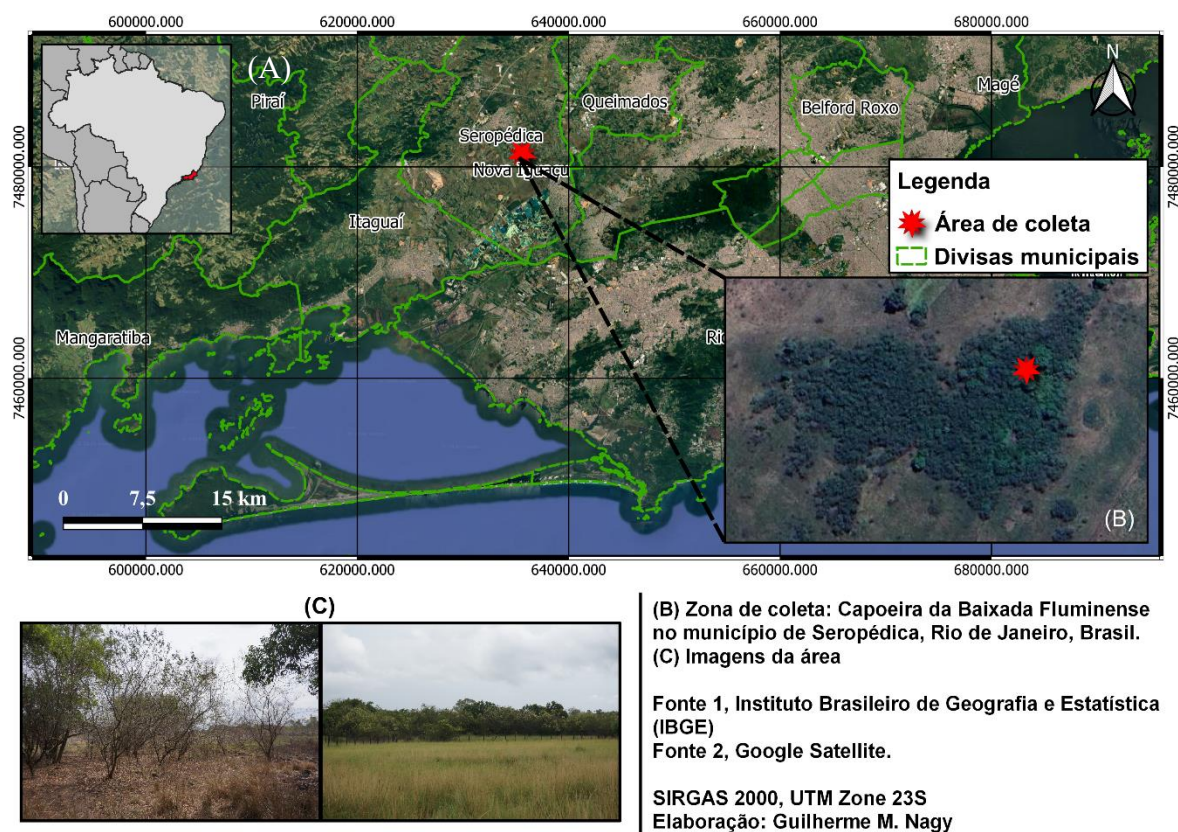


Figura 2 – a-c. Localização da amostragem – a. localização da área de coleta em relação ao rio de janeiro; b. uma visão próxima da área de coleta; c. fotografias da área de coleta na estação seca, após queimadas sazonais (esquerda) e chuvosa (direita).

3.2 Coleta, isolamento e preservação de amostras

Na ocasião foram tiradas fotografias da área de ocorrência e dos cogumelos, e foram coletados alguns esporóforos jovens para a clonagem por cultura de tecidos e esporóforos desenvolvidos para as descrições macromorfológicas, que foram realizadas com os mesmos frescos.

O solo foi escavado com auxílio de uma pá no local de surgimento de um esporóforo em uma área de 20x20 cm e, ao encontrar a raiz com as galhas-inseto-fungo reportadas, a raiz foi de forma cuidadosa escavada até o vegetal para confirmar a sua identidade. Duas amostras de raízes foram levadas acondicionadas em papel manteiga para o Laboratório de Química Biológica do Solo, do Departamento de Solos da UFRRJ, limpas com um pincel e observadas em um estereoscópio.

A identificação das cochonilhas foi realizada de forma rasa com base na morfologia externa observada sob estereoscópio. O material foi preservado em etanol 70% para futura identificação específica e congelado para análises moleculares e envio a especialista.

Também foram coletadas exsicatas da planta que possuía as galhas em suas raízes, sendo a sua identificação realizada por um especialista do Jardim Botânico da UFRRJ. A exsicata foi depositada no RBR – Herbário do Departamento de Botânica da UFRRJ sob o código RBR 63113.

As amostras fúngicas e raízes com as criptas foram armazenadas em sacos de papel, posteriormente desidratadas a 45 °C numa estufa de secagem com circulação de ar (Labtec Lb 82-180) e armazenados em sacos de plástico herméticos à temperatura ambiente. O exemplar de *P. beniensis* encontra-se depositado na coleção Herbário Fitopatológico da UFRRJ “Verlande Duarte Silveira” sob o código UFRJ1564.

O seu isolamento *in vitro* se deu em laboratório por clonagem de seu tecido interno fresco a partir de fragmentos que foram inoculados em placas de Petri contendo o meio de cultura Batata-dextrose-ágar (BDA), em uma BOD incubados a 25 °C sem iluminação. Fragmentos da cultura do fungo foram armazenados à temperatura ambiente em água destilada e por repicagem da cultura matriz para novas placas com BDA a cada 2 meses. Foram registradas as características da colônia macroscópicas e microscópicas, além do seu crescimento em cm dia⁻¹ a partir da medição do diâmetro da colônia a cada 48h.

A cultura do fungo encontra-se registrada e depositada na coleção de culturas de fungos do Laboratório de Química Biológica do Solo (LQBS) sob o código PHB281024.

Para análises microscópicas secções feitas à mão livre dos espécimes desidratados com auxílio de um estereoscópio e reidratadas em KOH 5% foram utilizadas, com lente de imersão em óleo (100x), reagente de Melzer foi utilizado para testar a amiloidia dos esporos. Medições e estatísticas das características microscópicas se basearam em ao menos 50 estruturas, quando possível.

Foi realizada a sua identificação de acordo com a literatura disponível (Magnago, 2018; Calaça et al., 2018; Miller *et al.*, 2000; Palacio *et al.*, 2014)

Os dados de basidiósporos estão divididos em: Q = razão entre largura e altura na forma de um intervalo de todos os basidiósporos medidos, e Q_m = o valor Q médio de todos os basidiósporos medidos.

3.3 Extração de DNA e identificação molecular

O DNA foi extraído a partir de micélio provindo de uma cultura líquida (PDB), agitada com barra magnética em um Erlenmeyer de 250 ml contendo 100 ml de meio. Após a trituração do micélio com a agitação diária com a barra magnética, o micélio foi filtrado utilizando uma bomba de vácuo acoplada a um kitassato contendo um funil de cerâmica com filtro de papel, por onde o meio líquido foi filtrado. O filtrado resultante foi coletado sob condições não-estéreis e acondicionado em tubos Eppendorf de 1,5 ml e imediatamente levado ao congelador de uma geladeira (-20 °C). A extração se deu no laboratório de Bacteriologia do Prédio de Sanidade Animal da UFRRJ e ainda se encontra em processo de depósito no GENBANK sob o código SUB16230156.

Foi realizada a extração sob método CTAB padronizado para extração de fungos filamentosos (Góes-Neto; Loguercio-Leite; Trindade Guerrero, 2005). O DNA resultante foi ressuspensionado em água ultrapura e deixado no congelador. Foi amplificado nuc rDNA ITS1-5.8S-ITS2 (ITS) por meio da técnica de Polymerase Chain Reaction (PCR), utilizando os primers ITS1 e ITS4. As reações foram preparadas em microtubos de 0,2 mL contendo volume final de 25 µL, composto por tampão de reação (1X), Taq DNA polimerase (1 U), MgCl₂ (2,5

mM), dNTPs (0,2 mM), primers ITS1 e ITS4 (0,4 μ M cada), 2 μ L de DNA molde e água ultrapura estéril para completar o volume final.

As amplificações foram conduzidas em termociclador utilizando o seguinte programa: desnaturação inicial a 94 °C por 5 min; 35 ciclos de desnaturação a 94 °C por 30 s, anelamento a 55 °C por 30 s e extensão a 72 °C por 1 min; seguidos de extensão final a 72 °C por 7 min.

Os produtos da PCR foram submetidos à eletroforese em gel de agarose 1,5% para confirmação da amplificação da região ITS dos fungos. O DNA foi sequenciado na Plataforma de Sequenciamento de DNA (PSEQDNA) da UFRJ pelo método Sanger.

Análises filogenéticas e de evolução molecular foram conduzidas usando o MEGA versão 12.1 (Kumar *et al.*, 2024). Foram utilizadas sequências obtidas em trabalhos anteriores no GENBANK (Magnago, 2018). As amostras foram alinhadas com o algoritmo ClustaW com os parâmetros padrão e então corrigidos manualmente quando necessário, as regiões de consenso entre todas as espécies, mas que apresentavam lacunas nas sequências obtidas para o táxon em estudo foram preenchidas com os nucleotídeos correspondentes meticulosamente.

As distâncias evolutivas foram calculadas usando o método de Máxima Verossimilhança Composta e estão em unidades de número de substituições de bases por sítio. O procedimento analítico abrangeu 15 sequências de nucleotídeos. A opção de exclusão de pares foi aplicada a todas as posições ambíguas para cada par de sequências, resultando em um conjunto de dados final com 826 posições. A porcentagem de árvores replicadas em que os táxons associados se agruparam no teste de Bootstrap (1.000 réplicas) é mostrada ao lado dos ramos. A árvore está desenhada em escala, com os comprimentos dos ramos nas mesmas unidades das distâncias evolutivas usadas para inferir a árvore filogenética.

3.4 Avaliação de crescimento do micélio

Foram avaliados o crescimento e morfologia da cepa PHB281024 sob diferentes condições. A reativação da cultura a partir de uma amostra de micélio armazenada em água destilada à temperatura ambiente (~25 °C) se deu em placas de Petri de acrílico de 9 cm de diâmetro contendo 20 ml de meio de cultura BDA (KASVI) autoclavado por 20 min a 121 °C. Após 14 dias de crescimento a 30 °C, foram retirados discos de 6 mm de diâmetro e transferidos para os meios avaliados, tomando cuidado para aleatorizar os discos das diferentes placas entre os tratamentos. As placas foram fotografadas utilizando-se uma câmera Sony NEX-3N.

Inicialmente, seguindo um rigoroso padrão de fotografias a cada 48 horas, o efeito da temperatura foi avaliado. Após a avaliação da temperatura ser completada, foi montado o experimento para avaliar o efeito do pH no crescimento do micélio, porém, ele foi aferido a cada 72 horas. Por fim, avaliou-se sob a temperatura e pH de crescimento mais rápido diferentes meios de cultura sólidos, dessa vez aferidos a cada 96 horas, essa diferença nos tempos de aferição foi implementada visando diminuir a quantidade de fotografias tiradas e facilitar o trabalho, devido ao crescimento mais lento demonstrado nos dois primeiros experimentos, porém posteriormente, na análise de dados, essa diferença de tempo aferição revelou, inesperadamente, um outro aspecto do micélio que não havia sido planejado.

Foram medidos até no mínimo 18 dias, a depender da resposta do fungo a medição se estendeu até os 23 dias. Cada tratamento dispôs de 5 repetições.

Para medição do diâmetro e da área da colônia foram aplicadas técnicas de visão computacional baseadas em inteligência artificial. Adotou-se o modelo YOLO (*You Only Look Once*) para a tarefa de detecção de objetos, juntamente com a escala em pixels/cm para cada imagem a partir de uma escala fotografada junto das placas. As imagens foram previamente rotuladas com a plataforma *Label Studio*, que permitiu a seleção manual das colônias de interesse, para que o modelo as selecionasse previamente.

A partir das colônias foram geradas caixas delimitadoras pelo modelo treinado, tornando possível calcular o diâmetro médio entre os diâmetros dos eixos x e y, como também a área ocupada por cada colônia em centímetro quadrado, que então foram utilizadas para calcular as taxas de crescimento a partir da fórmula 1:

Fórmula 1:

$$tc = \frac{\Delta d}{\Delta t}$$

Onde:

tc = Taxa de crescimento em cm dia⁻¹

Δd = Diferença entre diâmetro do último e primeiro dia de medição.

Δt = Diferença entre o último e primeiro dia de medição.

3.5 Efeito de diferentes meios de cultura

Os meios utilizados para o crescimento micelial de *P. beniensis* avaliados foram batata dextrose ágar (BDA), peptona batata dextrose ágar (PBDA), peptona levedura batata dextrose ágar (PLBDA), peptona extrato de malte ágar (MEA), batata dextrose borra de café ágar (BCA), serragem batata dextrose ágar (DAS) e o meio M1 obtido da patente de Ji *et al.*, (2009). A composição dos meios encontra-se na Tabela 2. Todos os meios foram ajustados para pH 5,5 utilizando 1 N HCl ou 1 N NaOH antes da esterilização. A incubação se deu a 30 °C em ambiente sem luz. O meio de cultura com a taxa de crescimento mais rápida foi selecionado para os testes seguintes.

Tabela 2. Concentrações dos componentes dos meios de cultura sólido.

Componente	Quantidade (g/l)						
	BDA	PBDA	PLBDA	MEA	BCA	DAS	M1
Batatas	200	200	200	200	200	200	200
Dextrose	20	20	20		20	20	20
Maltose				10			
Extrato de Levedura			2	2			1
Peptona		1	1				
Borra de Café					50		
Serragem fina (< 0.5 mm)						5	
K ₂ PO ₄							1
MgSO ₄							1
Ágar	20	20	20	20	20	20	20

Legenda: batata dextrose ágar (BDA), peptona batata dextrose ágar (PBDA), peptona levedura batata dextrose ágar (PLBDA), peptona extrato de malte ágar (MEA), batata dextrose borra de café ágar (BCA), serragem batata dextrose ágar (DAS) e meio M1 (Ji *et al.*, 2009).

3.6 Efeito de diferentes temperaturas e pHs

O crescimento se deu a partir do meio de cultura com melhor desempenho, sob as temperaturas 25, 30 e 35 °C. Após a conclusão dos testes de temperatura, novos meios de cultura foram ajustados para o pH 4, 4,5, 5, 5,5, 6, 6,5, 7, 7,5 e 8 antes da autoclavagem utilizando 1 N HCl ou 1 N NaOH, e incubados na temperatura ideal obtida no experimento anterior. Esses dois fatores, com 5 repetições por tratamento, totalizaram 15 e 45 unidades experimentais, respectivamente.

3.7 Cultivo axênico

Inicialmente, foram preparados 150 ml de meio líquido PDB em um Erlenmeyer de 250 ml, ajustado para pH 4, que foi esterilizado por 20 min a 120 °C e inoculado com um disco de micélio e incubado por 20 dias sob agitação eventual. Grãos de trigo foram deixados de molho por 24 h e então cozidos por 20 minutos quando o interior dos grãos não estava mais branco. Foram então deixados escorrer o excesso de água, acrescidos de 1,5% (p/p) de CaSO₄, homogeneizados e divididos em potes de vidro com tampa permeável ao ar de 500 ml com 250 g de grão em cada. A esterilização se deu a 120 °C por 60 minutos. Após 20 dias de incubação sem indução luminosa à 30 °C, os grãos foram utilizados para inocular os sacos de substrato.

Foram utilizados 3 tratamentos para avaliar diferentes formulações de substrato. As três formulações de substrato testadas empregaram componentes lignocelulósicos e fontes complementares de nutrientes.

A composição dos substratos encontram-se na Tabela 3. A palha utilizada foi de arroz, triturada, e a serragem de *Eucalyptus sp.* Após homogeneização dos materiais secos e adição do açúcar em solução diluída, adicionou-se água até atingir 65% de umidade.

Tabela 3. Composição dos substratos utilizados para verificação do cultivo de *P. beniensis*.

Tratamento	Serragem (%)	Palha (%)	Solo vermelho (%)	Farelo de trigo (%)	Sulfato de cálcio (CaS) (%)	Açúcar (%)
T1 (S)	58	-	20	20	1	1
T2 (SP)	29	29	20	20	1	1
T3 (P)	-	58	20	20	1	1

O substrato foi acondicionado em sacos de polipropileno com filtro de ar, com 500 g em cada, submetido à esterilização a 121 °C por 60 min. Após o resfriamento, realizou-se a inoculação com o inóculo de grãos de trigo em câmara de fluxo laminar a uma proporção de 5% de inóculo (p/p) e então foram selados e incubados a 25 ± 2 °C até a colonização completa.

Para cobertura dos substratos foi utilizado solo de sub-bosque peneirado para remover galhos e folhas ajustado para 20% de umidade sob o peso do solo seco ao ar. Foi feita uma camada de aproximadamente 2 cm sob o substrato o que totalizou cerca de 200g por bloco, similar ao utilizado por Ji *et al.* (2011) no uso de solo local não esterilizado.

A temperatura da estufa foi mantida a 24 - 30 °C com umidade 80 - 90% para a colonização da camada de cobertura pelo fungo. Após a colonização completa, seria elevada a umidade para 90-100% e o CO₂ ajustado para 500 - 750 ppm através de maior ventilação da estufa.

Após a adição do solo, as camadas de cobertura de todas as repetições foram contaminadas pelo fungo *Trichoderma sp.*, ocasionando a interrupção do experimento de cultivo prematuramente.

De cada unidade experimental foram coletados dados referentes ao tempo de colonização completa do substrato. Foi utilizada a diferença de crescimento, em centímetros, entre 2 dias consecutivos para avaliar a taxa de crescimento nos substratos.

3.8 Análise estatística

Todos os resultados foram analisados com auxílio da estatística descritiva, análise de variância (ANOVA), teste de Tukey a 5% de probabilidade e regressão linear utilizando o

software RStudio. A visualização gráfica foi feita utilizando pacotes em Python no software Visual Studio Code.

3.9 Utilização de Inteligência Artificial

Durante a execução deste trabalho, foi utilizado um assistente de linguagem natural baseado em inteligência artificial generativa (Deepseek) exclusivamente para tarefas de suporte à redação científica. Especificamente, a ferramenta foi empregada para revisão gramatical e de estilo dos textos escritos em português e inglês, sem alteração do conteúdo científico original e padronização das referências bibliográficas de acordo com as normas ABNT NBR 6023, com auxílio na correção de abreviações e inclusão de DOIs e links de acesso;

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Área de coleta e Identificação Taxonômica

Os esporóforos foram coletados em uma área de capoeira com predomínio de espécies arbóreas identificadas como *Mimosa bimucronata* (maricá), cercada por pastagens e com presença de gado, com ambiente próximo alagado periodicamente e solo com textura arenosa. Os cogumelos ocorrem sob a copa das espécies de *M. bimucronata* em alguns pontos da paisagem não alagadiços, de forma gregária, com maior recorrência de aparições nos meses chuvosos. Essa população de *P. beniensis* ocorre no mesmo local a ao menos 5 anos, surgindo em locais diferentes, sob a sombra das árvores.

Phlebopus beniensis (Singer & Digilio) Heinem. & Rammeloo, Mycotaxon 15: 390 (1982).

Figuras. 3a-c; 4

Tipo: R. Singer B1613, Bolívia, Guayaramerim (LIL) (como citado por Heinemann & Rammeloo 1982).

Píleo de 50–170 mm de diâmetro, hemisférico com a margem levemente encurvada quando imaturo, se tornando plano-convexo e com depressões no centro e distribuídas irregularmente no píleo; Superfície seca e lisa e de cor amarelo acastanhado ou castanho avermelhada (Figura 1(A)); Margem distinta e livre de poros; Contexto com 15 – 39 mm, macio, amarelo claro, se tornando levemente azulado com a exposição ao ar, especialmente na metade do contexto próxima aos tubos, mudando para levemente avermelhado com KOH 5%; *Himenóforo* subdecurrente a depresso perto do estipe, com tubos de até 1,7 mm de altura, de 2 - 3 poros/mm² e de cor amarelo-claro a amarelo especialmente próximo à margem do píleo e conexão com estipe, se tornando marrom-amarelado a marrom escuro quando amassado; *Estipe* 25–70 mm de comprimento e 15–26 mm de largura, central, subigual ou clavado, sólido, superfície seca, amarela próximo ao píleo se tornando marrom amarelada a preta acinzentada próximo a base, ficando mais escuro onde manipulado, contexto de marrom na superfície a amarelo creme no centro, com forte reação de azulamento perto da base em algumas amostras (Figura 1(B – C)); O micélio da sua base era marrom; Carimbo de esporos de cor marrom amarelado a marrom oliva. Odor e sabor não determinados.

Basidiósporo (6,6) 6,7 – 7,5 (7,7) × (4,4) 4,8 – 5,2 (5,4) µm, Q = 1.4 - 1.5, N = 50, Me = 7.1 × 4.9 µm, Qe = 1.4, elipsóide a curto-elipsóide, castanho-amarelado em KOH 5%, inamiloide, de parede ligeiramente espessa, apresentando superfície lisa sob microscopia de

luz, com presença de gutulas largas, presença de apêndice hilar sublateral perceptível. *Basídios* 19,9–26,7 × 8,1–13,3 µm (Qm = 2,2), clavados, de parede fina, hialinos, com 4 esterigmas medindo de 2,5–6 µm de comprimento, eventualmente com gutulas oleaginosas (Figura 1(D)). *Queilocistícios* observados, apenas realmente nas pontas externas dos tubos, sendo clavados e bastante arredondados e perceptíveis, com o dobro da largura dos basídios. *Pleurocistídios* não observados no tubo ou inconspícuos, presença de elementos clavados a subclavados junto aos basídios e de mesmas dimensões; trama do himenóforo boletoide, com estrato médio gelatinizado formado por hifas estreitas, irregulares a divergentes, 2–4,5 µm de largura, hialinas, hifas oleíferas não observadas. *Pileipellis* do tipo tricotérmico, com elementos terminais de 2–10 µm de largura, com elementos mucronados, fusiformes e cilíndrico-clavados, lisos, de parede fina. Trama do píleo entrelaçada, com hifas de 5–14 µm de largura, hialinas, eventualmente com pigmento âmbar e infladas. *Estipitelipellis* composta por caulocistídios ou cistidiólos clavados, cilíndricos, mucronados a inflados, de 3–10 µm, de parede fina, hialinos, com presença rara de caulobasídios, similares aos basídios. Trama do estipe formada por hifas dispostas longitudinalmente, cilíndricas, de 4–9 µm de largura, hialinas. Conexões em fivela presentes em todos os septos.

Material examinado: Seropédica, Campus da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Campo atrás do Colégio Técnico da UFRRJ, 24 outubro 2024, *Nagy et al.* PHB2810. UFRJ1564.

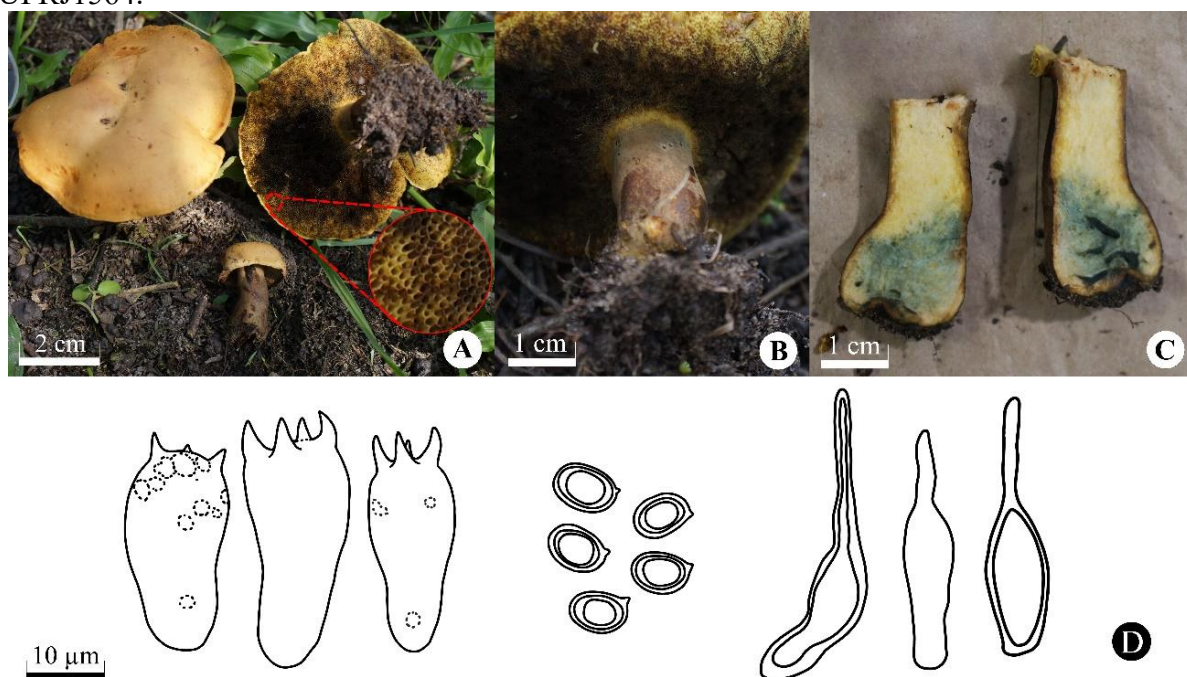


Figura 3 – a-c. Esporóforos de *Phlebopus beniensis*. a. píleo, himênio, e esporóforo pouco desenvolvido, em vermelho visão aproximada do himênio; b. inserção do estipe no píleo; c. Reação azul-esverdeada na base do estipe. d. da esquerda para direita: basídios, esporos e elementos terminais da pileipellis.

As características encontradas vão de encontro às descritas para *P. beniensis* na literatura (Calaça *et al.*, 2018; Magnago, 2018), principalmente no tamanho dos esporos, que são em sua grande maioria < 7,5 µm, cor do píleo castanho amarelada á avermelhada, tamanho de poro de até 0,5 mm e pleurocistídios inconspícuos ou muito raros, a presença ou ausência de cistídios pode variar de acordo com a interpretação do taxonomista, pois podem ser confundidos com cistidiólos tendo em vista que outras espécies do gênero possuem ausência de cistídios. No Brasil são registrados a ocorrência de até 4 -5 espécies, porém, todas diferem ou no tamanho de poro, de esporos, na cor e textura do píleo, dentre outras, além disso, Magnago (2018) demonstrou também, por meio de métodos moleculares, que variações na cor do píleo e reações

de azulamento no contexto são características que variam dentro da espécie *P. beniensis*, e que ele possui poucos cistídios. Foram encontrados, porém, queilocistídios na ponta dos tubos, o que também vai de encontro com a literatura, que atesta a sua presença apenas nessa localização, foi bastante difícil realizar sua visualização no material desidratado, necessitando realizar cortes a mão livre em material coletado fresco para conseguir observar.

Para além disso, aqui propõe-se a possível consideração de que a espécie descrita como *Boletus tropicus* por Gonçalves (1940), onde hoje é o município de Nova Iguaçu, provavelmente se tratava de *P. beniensis*. Embora não seja possível confirmar a identidade do material analisado por Gonçalves (1940) devido à ausência de descrição microscópica, a localidade (Baixada Fluminense) e o hospedeiro (*Citrus* sp.) são compatíveis com a ocorrência de *P. beniensis*. Estudos futuros com coletas na mesma região poderão esclarecer essa questão.

Esse registro representa o primeiro registro formal da presença de *Phlebopus beniensis* para o estado do Rio de Janeiro, embora a probabilidade deste fato era alta por já apresentar registros para Amazonas, Bahia, Espírito Santo, Goiás, Paraíba, São Paulo, Rio Grande do Sul e Paraná (Prado-Elias *et al*, 2022; Magnago, 2018).

4.2 Análise filogenética

Foi obtida a partir do sequenciamento dos fragmentos resultantes da PCR uma sequência de nucleotídeos de 585 pb. Houve um agrupamento do material estudado próximo de *P. beniensis* sequenciadas por Magnago (2018). As outras espécies se agruparam em braços diferentes da árvore filogenética, que se encontra na Figura 4.

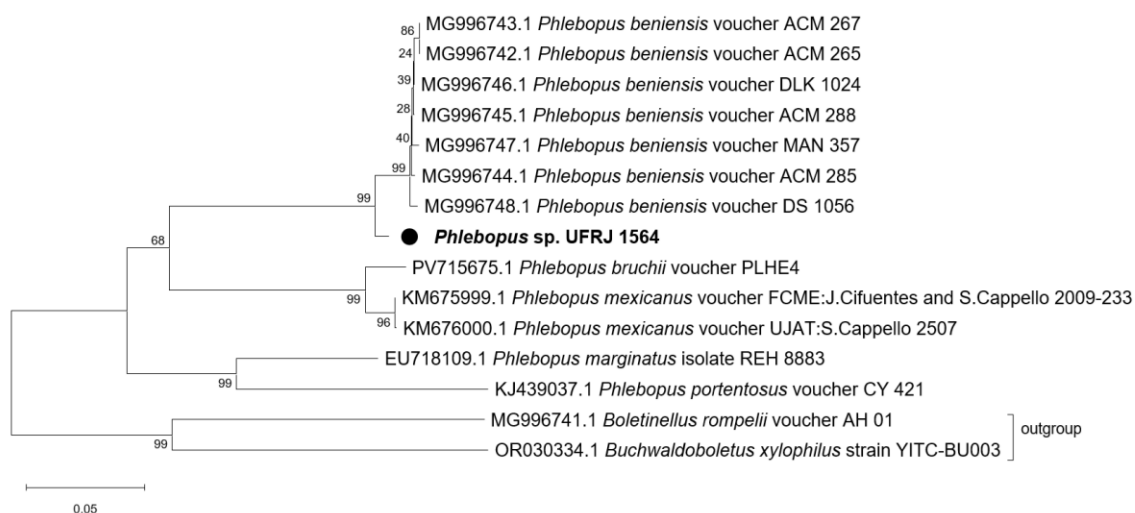


Figura 4. Árvore Máxima Verossimilhança Composta (NJ) baseada em sequências rnlTS. Valores de bootstrap ao lado dos ramos em porcentagem. Símbolo círculo preto: taxon estudado. O código de acesso do GENBANK encontra-se antes do nome da espécie. “outgroup” = grupo externo.

A sequência obtida apresentou maior similaridade com *Phlebopus beniensis*, porém o isolado não se agrupou diretamente dentro do clado desta espécie na análise filogenética. Esse padrão pode estar associado à baixa qualidade da sequência obtida, com bases sobrepostas no cromatograma, que pode introduzir erros na inferência filogenética, como lacunas ou ruído. Apesar disso, a morfologia aponta para *P. beniensis* e o DNA sugere a mesma espécie, mas com baixa resolução.

4.3 Interação tripartite Fungo-Planta-Inseto

Foram encontradas duas raízes da *Mimosa bimucronata* (Maricá) com estruturas fúngicas, uma sob o local de surgimento de alguns esporóforos e a outra sem a presença de esporóforos, representando o primeiro registro dessa leguminosa com *P. beniensis*. As galhas fúngicas tinham 5 x 1,5 cm, envolviam as raízes secundárias e mais finas da planta, com no máximo 3 a 5 mm de espessura, e continham dezenas de cochonilhas (*Pseudococcidae*) em diversos estágios de desenvolvimento, como representado na Figura 5.



Figura 5. a-d. Galhas de *Phlebobius beniensis* associados às raízes de *Mimosa bimucronata* contendo insetos da família *Pseudococcidae*; a. raiz principal e secundária, contendo o esclerócio; b. Esclerócio com abertura lateral demonstrando as cochonilhas. c. secção transversal da raiz e da cripta; d. visão lateral; os círculos vermelhos em c e d destacam as cochonilhas.

O interior das criptas tinha cor branca a amarelo claro ou castanho, se tornando castanho escuro quase preto no exterior, sendo não muito resistentes quando úmidas, mas bastante resistentes quando desidratadas. A planta em questão apresentava colônias de formigas na base do seu coleto/tronco. Não se pode afirmar sobre os efeitos das galhas sob a saúde do vegetal, porém o mesmo coincidentemente ou não se encontra bastante afetado pelo que parecem ser efeitos de ventos intensos, com queda de alguns galhos.

Não obstante, acredita-se que as raízes envoltas pelas galhas estariam com menor disponibilidade de água, nutrientes e sob sucção das cochonilhas, sendo prejudicial. Algumas das colônias e olheiros presentes nos arredores hoje em dia são de formigas do gênero *Atta*, porém acredita-se que no passado abrigou formigas do gênero *Solenopsis*, ou formigas de fogo, como são mais conhecidas.

Sabe-se que a ocorrência desse cogumelo se dá ao longo do fragmento inteiro, se estendendo para fragmentos de *M. bimucronata* mais distantes. Registrou-se, portanto, pela primeira vez a interação entre *Mimosa bimucronata* e o gênero *Phlebobius*. Esse fato corrobora com a literatura, que já em 1940 (Gonçalves) descrevia a presença do gênero associado, porém não restrito, a leguminosas.

É importante ampliar estudos da sua relação ecológica para abrir o caminho para entender melhor os métodos de cultivo biomiméticos, ou seja, em campo, dessa espécie.

4.4 Colônia cultivada

A colônia apresentou um crescimento relativamente lento se comparado a outros basidiomicetos saprófitas, com 0,2 a 0,35 cm dia⁻¹. Sua aparência macroscópica, era coriácea, relativamente resistente, com presença de pequenas protuberâncias irregulares e eventualmente gotas de exsudatos alaranjadas ou amareladas. As partes mais antigas adquiriram cor marrom, já as partes mais novas tinham cor amarelo-amarronzada. Apresentou também superfície irregular, com eventualmente a presença de sulcos. Os meios de cultura cultivados com *P. beniensis* apresentaram forte mudança de coloração, com um pigmento amarelo a amarelo-avermelhado, podendo ficar bem escuro em alguns casos.

O crescimento da colônia possuía reentrâncias no meio de cultura sólido, como uma tentativa do fungo de “entrar” ou “escavar” o meio de cultura, quase sempre descolando o meio de cultura do fundo da placa de Petri e formando uma espécie de protuberância ou elevação no meio da colônia. A colônia e microscopia encontram-se na Figura 6.

A colônia apresentou grande variação morfológica, apresentando texturas e formas com grande diferença entre si sem variação aparente das condições ambientais e de cultura. A repicagem da colônia foi dificultada pela sua natureza coriácea, o que pode ter gerado fragmentos irregulares que levaram ao crescimento diferenciado posteriormente, porém somente a irregularidade do inóculo inicial provavelmente não explica toda a variação de cores, exsudação, padrões de textura encontrados.

Bactérias contaminantes no meio de cultura tiveram seu crescimento visivelmente inibido e crescimento cessado. A bacteriostase em meio de cultura é um indicativo da produção de substâncias antibióticas e difusão das mesmas no meio, uma característica presente em outras espécies da família (Madhosingh, 1966) como *Buchwaldoboletus lignicola* (Kallenb.) e *Chalciporus sphaerocephalus* (Barla).



Figura 6. a-c. Colônia *in vitro* de *Phlebopus beniensis* - a. macromorfologia do micélio vegetativo em meio BDA; b. fragmentos inflados da colônia mostrando um grampo de conexão (fibula) (círculo preto); c. Hifas finas e infladas, com a presença de grampo de conexão duplo (círculo preto).

A análise microscópica revelou constante presença de grampos de conexão com um e dois grampos, similar ao reportado na literatura (Thongklang *et al.*, 2011). Além disso elementos de hifas inflados foram encontrados, tanto nas bordas quanto no centro das colônias, um fato ainda não reportado para a espécie.

4.5 Crescimento do micélio em diferentes temperaturas, pHs e meios de cultura

A taxa de crescimento do micélio foi mais rápida na temperatura de 30 °C, em seguida 25 e 35 ° (Figura 7). A faixa de pH que apresentou o crescimento significativamente mais lento foram os pHs $\geq 6,5$, além da regressão linear significativa também indicar que existe uma tendência de crescimento mais acelerado em pHs mais ácidos. Os meios de cultura com as maiores taxas de crescimento foram BDA e M1 (Figura 10), sendo o meio DAS o de crescimento mais lento.

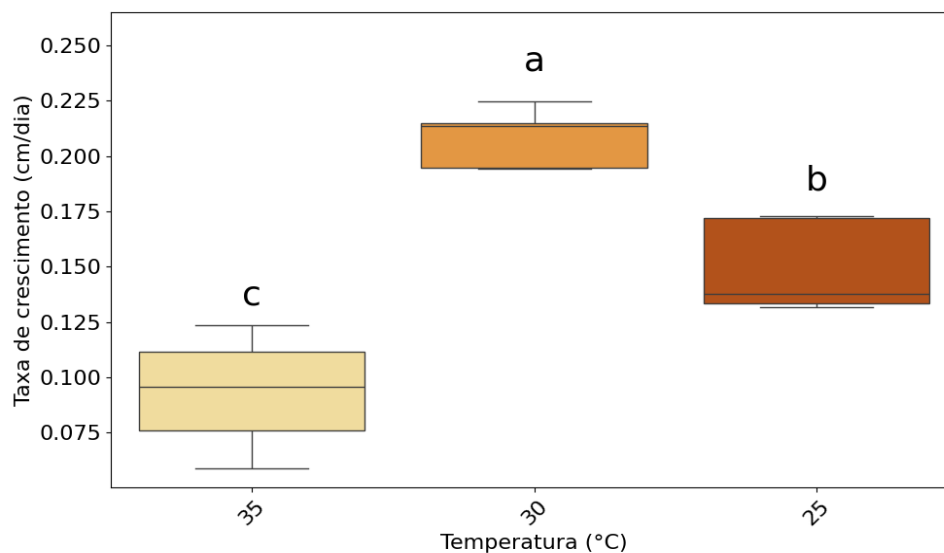


Figura 7. Efeitos da temperatura na taxa de crescimento da linhagem selvagem PHB-281022 *Phlebobus beniensis* aos 20 dias. Os boxes com letras diferentes diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

O efeito da temperatura e essa faixa de 30 °C como sendo a ideal também é observado em outras espécies de gêneros distantes, como por exemplo *Auricularia cornea* (Drewinski *et al.*, 2024a) que também prefere 30 °C. Essa temperatura é muito encontrada em espécies neotropicais.

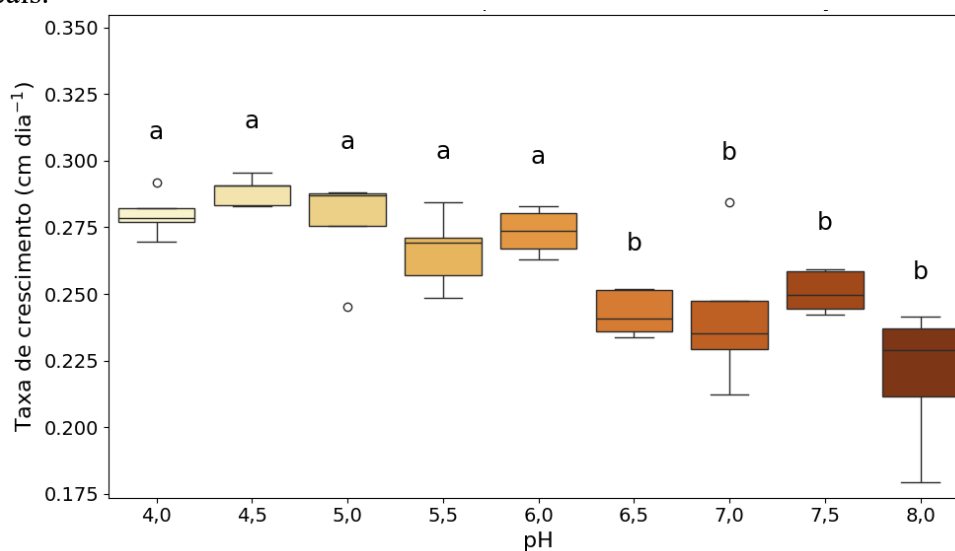


Figura 8. Efeito do pH do meio de cultura na taxa de crescimento do micélio de *Phlebobus beniensis*. Os boxes com letras diferentes diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

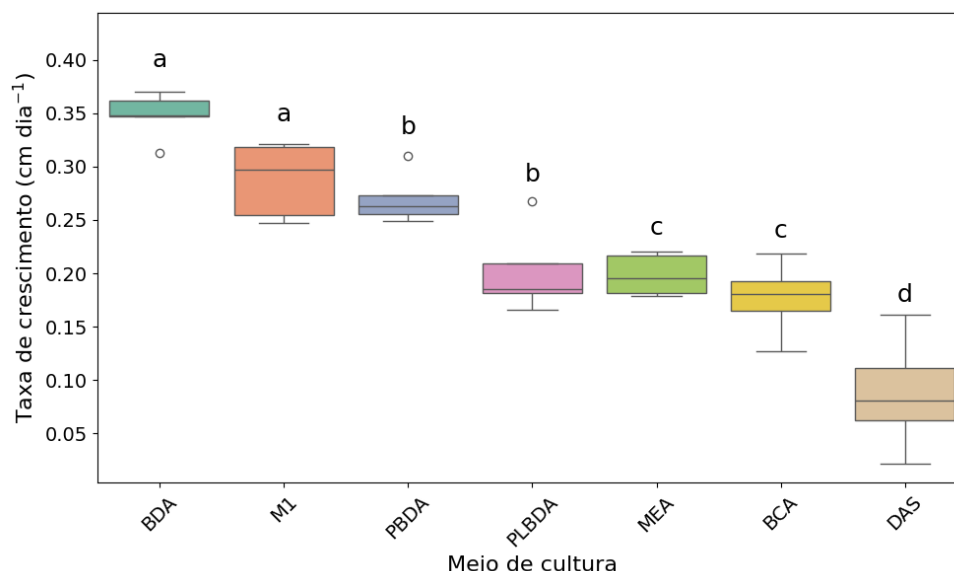


Figura 9. Efeito de diferentes meios de cultura na taxa de crescimento do micélio de *Phlebopus beniensis*. Os boxes com letras diferentes diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

As taxas de crescimento obtidas na verificação dos diferentes meios de cultura máxima foi em média de 0,35 cm dia⁻¹, uma taxa similar ao encontrado na literatura para o gênero, equiparando-se às mais rápidas. As taxas de crescimento da temperatura e pH foram de 0,22 e 0,28 cm dia⁻¹, respectivamente em média, que é um resultado mais lento se comparado ao observado no experimento de meios e não obstante mais próximo da literatura.

Conforme os diferentes experimentos foram conduzidos, o tempo de coleta foi modificado, no de temperatura fotografou-se a cada 48 h, pH a cada 72 h e meios a cada 96 h, isso causa diferentes exposições a luz no momento de realizar a fotografia, isso poderia explicar a maior taxa de crescimento no experimento de meios de cultura, embora ele tenha realizado utilizando o mesmo meio e nas melhores condições das etapas anteriores. A sensibilidade a luz de *P. portentosus* já é reportada na literatura, com uma maior taxa de crescimento no escuro (He *et al.*, 2009).

O gênero *Phlebopus* possui afinidade com amido e xilana, evidenciada pelo seu aparato genético-enzimático (Kang *et al.*, 2025; Wan *et al.*, 2021) que talvez possa ajudar a explicar o desempenho lento do fungo quando adicionada a serragem no meio, talvez por uma baixa capacidade enzimática para degradação de lignocelulose do gênero.

Os resultados obtidos para pH, temperatura e meios de cultura são muito similares aos encontrados na literatura, sendo 30 °C e pHs mais ácidos ligados a maiores taxas de crescimento e produção de biomassa. Os resultados de crescimento mais rápido obtidos por outros autores em meios de cultura sólidos para espécies próximas encontra-se sumarizado na Tabela 4.

Tabela 4. Características e parâmetros de crescimento e suas respectivas taxas de crescimento de espécies de *Phlebopus* reportadas na literatura.

Espécie	Taxa de crescimento (cm dia ⁻¹)	pH	Meio	Temperatura (° C)	Referência
<i>P. portentosus</i>	-	4	MEA	30	Thongklang <i>et al.</i> (2011)
<i>P. portentosus</i>	0,35	4	-	30	He <i>et al.</i> (2009)

<i>P. spongiosus</i>	0,32	5	MS, L-MMN	30	Kumla; Suwannarach & Lumyong (2020)
<i>P. spongiosus</i>	0,28	4, 5	MS	30	Nhi <i>et al.</i> (2017)
<i>P. roseus</i>	0,3	-	PDA	24	Mei <i>et al.</i> (2020)

Fonte: Elaborado pelo autor. Legenda: MEA (Extrato de malte ágar), MS (Murashige and Skoog ágar), L-MMN: modified Melin-Norkans ágar.

Em muitos casos, as taxas de crescimento indicam linhagens que demonstraram o crescimento mais rápido. Outras linhagens obtidas de *P. beniensis* (dados não publicados, Nagy, 2026) demonstram taxa de crescimento desacelerado e morfologia da colônia heterogênea por causas desconhecidas, provavelmente inerentes a linhagem ou fatores externos. Isso pode indicar que possuímos uma linhagem promissora para formar a base para o melhoramento genético e cultivo em grande escala.

4.6 Cultivo axênico



Figura 11. Cultivo axênico de *P. beniensis* em substratos à base de serragem de *Eucaliptus sp.* e palha de *Oryza sp.* Abaixo, linha de colonização do micélio no substrato.

O substrato demorou cerca de 50 dias até a colonização completa, similar ao reportado de 45 – 60 dias por Thongklang *et al.* (2011), porém, ainda há muito espaço para melhorar a velocidade de colonização do substrato. No caso desse experimento o micélio cresceu no

sentido de menor dimensão do substrato, além de possuir menos substrato como um todo, com apenas 500 g, tendo em vista que geralmente é utilizado 800 – 1300 g em cultivos comerciais de *P. portentosus* e que levam em torno desse tempo, há por exemplo uma técnica de perfurar o substrato para aumentar a cobertura de micélio inicialmente acelerando a colonização, que poderia ser utilizada em experimentos futuros que se aproximem mais dos empregados na indústria de produção desse cogumelo.

A taxa de crescimento não apresentou diferença significativa entre os tratamentos ficando em torno de 1 cm dia⁻¹, porém, os substratos que apresentaram palha adquiriram um volume maior após o envasamento, gerando então uma superfície maior para o micélio percorrer, atrasando a colonização desses tratamentos no tempo, mas não em termos de taxa de crescimento. A aparência do micélio nos substratos à base de serragem pareceu mais densa. O crescimento de 1 cm dia⁻¹ é maior que o encontrado de 0,35 cm dia⁻¹ em placas, sugerindo uma maior afinidade pelo substrato.

A superfície do substrato aparentava estar ressecada no momento de adição da camada de cobertura, enquanto a parte de baixo aparentava estar úmida, isso pode ter prejudicado a colonização do casing, porém, não foi o maior impedimento, tendo em vista a contaminação geral por *Trichoderma* sp. Esse resultado ocorreu por diversos fatores, levando em consideração o ambiente, as condições do solo e o não conhecimento da resistência a patógenos da linhagem estudada, há a necessidade de realizar o experimento utilizando casing esterilizado como comparação, e também aplicar estratégias citadas na literatura para diminuição de contaminações, como adição de turfa, soluções nutritivas, coleta de solo de camadas do subsolo com menos microrganismos ou microrganismos selecionados, compostagem do solo, dentre outras alternativas. Deve-se também procurar imitar o recipiente de cultivo otimizado asiático, visando uma taxa de colonização mais rápida e menos diferença de idade entre o micélio inicial e o do final da colonização, evitando seu ressecamento.

4.7 Perspectivas futuras

Há a necessidade de se intensificar as pesquisas da espécie *P. beniensis* acerca das capacidades de diferentes linhagens em diferentes substratos de produzir cogumelos, criando uma base de comparação para o estudo do cultivo dessa espécie. Será necessário a coleção de linhagens de diferentes partes do país e realização de uma bateria de avaliações como as deste estudo, e do correto e seguro armazenamento delas, possibilitando estudos de melhoramento genético.

O avanço no cultivo deverá vir acompanhado de estudos avaliando a aceitação do cogumelo pela população brasileira, e se o seu sabor é realmente apreciado e poderia ter demanda de mercado, o que é muito provável devido à grande procura do gênero *Phlebopus* na Ásia e na Argentina, por exemplo, que motivou extensivos investimentos no desenvolvimento da sua cultura na China.

Para realizar essas ações é necessário um maior direcionamento e captação de recursos para formação de técnicos e profissionais habilitados para pesquisar a respeito do cultivo de cogumelos comestíveis e seu aproveitamento, similar ao desenvolvido a décadas em países asiáticos, como um processo de valorização de mais um setor da biodiversidade brasileira.

5 CONCLUSÃO

- Este estudo registrou primeira vez a ocorrência de *Phlebopus beniensis* no estado do Rio de Janeiro.
- Pela primeira vez no Brasil observou-se a interação ecológica tripartite, e de forma pioneira no mundo entre as espécies *Mimosa bimucronata*, *P. beniensis* e *Pseudococcidae* sp., sendo a

segunda interação registrada para a espécie fúngica, trazendo também mais uma contribuição para a escassa literatura a respeito.

- Este estudo descreveu pela primeira vez as características morfológicas e de desenvolvimento de uma linhagem de *P. beniensis* *in vitro* sob diversas condições ambientais.
- As condições *in vitro* para a espécie *P. beniensis* de maior taxa de crescimento (30 °C, pHs ácidos e meio M1) foram elucidadas pela primeira vez através da linhagem PHB281024, inclusive com a tentativa de cultivo inédita sob método axênico.
- Pode-se concluir, portanto, que *P. beniensis* é uma espécie com importante potencial alimentício, agrônômico e cultural, restando a necessidade de mais estudos para elucidar melhor suas interações ecológicas e seus potenciais danos á culturas agrícolas, além disso elucidar também as condições para formação dos seus esporóforos sob cultivo artificial, o que proporcionaria a possibilidade de avaliação do seu cultivo em grande escala para o mercado brasileiro.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BANDALA, V. M.; MONTOYA, L.; JARVIO, D. Two interesting records of boletes found in coffee plantations in Eastern Mexico. *Persoonia – Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi*, v. 18, n. 3, p. 365–380, 2004. Disponível em: <https://repository.naturalis.nl/pub/531672/PERS2004018003004.pdf>. Acesso em: 24 mai. 2026.

BARBOSA-SILVA, A. *Tylopilus e Phlebopus (Boletales) em áreas de Mata Atlântica do Nordeste Brasileiro*. 2015. Monografia (Graduação em Biologia) – Universidade Federal da Paraíba, Paraíba, 2015. Disponível em: https://repositorio.ufpb.br/jspui/handle/123456789/1456?locale=pt_BR. Acesso em: 24 mai. 2026.

BARBOSA-SILVA, A.; WARTCHOW, F. Considerations on the rare species *Phlebopus brasiliensis* (Fungi, Basidiomycota, Boletellaceae) from Atlantic Forest of Northeast Brazil. *Proceedings of the Biological Society of Washington*, v. 133, n. 1, p. 109–119, 2020. DOI: <https://doi.org/10.2988/20-00007>. Também disponível em: <https://bioone.org/journals/proceedings-of-the-biological-society-of-washington/volume-133/issue-1/20-00007/Considerations-on-the-rare-species-Phlebopus-brasiliensis-Fungi-Basidiomycota-Boletellaceae/10.2988/20-00007.short>. Acesso em: 24 mai. 2026.

BELL, V.; SILVA, C. R. P. G.; GUINA, J.; FERNANDES, T. H. Mushrooms as future generation healthy foods. *Frontiers in Nutrition*, v. 9, 1050099, 2022. DOI: <https://doi.org/10.3389/fnut.2022.1050099>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36562045/>. Acesso em: 24 mai. 2026.

BERTELSEN, C. D. *Mushroom: a global history*. London: Reaktion Books, 2013.

CALAÇA, F. J. S.; SILVA, B. D. B.; ROCHA, A. S.; SILVA, G. A.; SANTOS, F. R.; SANTOS, I. P. O. *Phlebopus beniensis* (Boletellaceae, Boletales) in the Brazilian Cerrado biome. *Rodriguésia*, v. 69, n. 2, p. 939–944, 2018. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/2175-7860201869244>. Disponível

em: <https://www.scielo.br/j/rod/a/8ygR5sq4M7ZszPMDwWvBNJB/?format=pdf&lang=en>. Acesso em: 26 abr. 2026.

CAMPI, M.; MANCUELLO, C.; MAUBET, Y.; CRISTALDO, E.; VELOSO, B.; FERREIRA, F.; THORNTON, L.; ROBLEDO, G. Biochemical, nutritional, and toxicological properties of the edible species *Phlebopus beniensis* with ethnomycological notes from Paraguay. *Brazilian Journal of Food Technology*, v. 26, e2022126, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1590/1981-6723.12622>. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/1981-6723.12622>. Acesso em: 24 mai. 2026.

CAO YANG; JI GUANG-YAN; LUO SHUN-ZHEN; GAO LI-XIA; TAO LING; WANG QIU-LAN; YANG RUI-HENG; BAO DA-PENG; JI KAI-PING. Domestication and artificial cultivation of *Phlebopus portentosus*: retrospect and prospect. *Mycosystema*, v. 40, n. 12, p. 3064–3080, 2021. DOI: 10.13346/j.mycosystema.210348. Disponível em: <https://manu40.magtech.com.cn/Jwx/article/2021/1672-6472/1672-6472-40-12-3064.shtml>. Acesso em: 24 mai. 2026.

CARMONA-VALENCIA, L. A.; NAVARRO-ESCALANTE, L.; BENAVIDES, P.; PALACIO, Z. N. G. The association between basidiomycete fungi and mealybugs (Pseudococcidae) affects coffee plants. *Agronomy*, v. 15, n. 3, 551, 2025. DOI: <https://doi.org/10.3390/agronomy15030551>. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/agronomy15030551>. Acesso em: 24 mai. 2026.

DESCHAMPS, J.; MORENO, G. *Phlebopus bruchii* (Boletales): an edible fungus from Argentina with possible commercial value. *Mycotaxon*, v. 72, p. 205–213, 1999. Disponível em: <https://www.biodiversitylibrary.org/page/64549041>. Acesso em: 28 mar. 2026.

DREWINSKI, M. P.; ZIED, D. C.; GOMES, E. P. C.; MENOLLI JR, N. Cultivation of a wild strain of wood ear *Auricularia cornea* from Brazil. *Current Microbiology*, v. 81, n. 11, 390, 2024a. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00284-024-03920-5>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/39367930/>. Acesso em: 24 mai. 2026.

DREWINSKI, M. P.; CORRÊA-SANTOS, M. P.; LIMA, V. X.; LIMA, F. T.; PALACIO, M.; BORGES, M. E. A.; TRIERVEILER-PEREIRA, L.; MAGNAGO, A. C.; FURTADO, A. N. M.; LENZ, A. R.; SILVA-FILHO, A. G. S.; NASCIMENTO, C. C.; ALVARENGA, R. L. M.; GIBERTONI, T. B.; OLIVEIRA, J. J. S.; BALTAZAR, J. M.; NEVES, M. A.; VARGAS-ISLA, R.; ISHIKAWA, N. K.; MENOLLI JR, N. Over 400 food resources from Brazil: evidence-based records of wild edible mushrooms. *IMA Fungus*, v. 15, n. 1, 40, 2024b. DOI: <https://doi.org/10.1186/s43008-024-00171-8>. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC11639120/>. Acesso em: 24 mai. 2026.

DUCOUSSO, M.; BÂ, A. M.; THOEN, D. Les champignons ectomycorhiziens des forêts naturelles et des plantations d'Afrique de l'Ouest : une source de champignons comestibles. *BOIS & FORETS DES TROPIQUES*, v. 275, n. 275, p. 51, 2002. DOI: <https://doi.org/10.19182/bft2003.275.a20209>. Disponível em: <https://doi.org/10.19182/bft2003.275.a20209>. Acesso em: 24 mai. 2026.

FANG, Y. W.; WANG, W. B.; HE, M. X.; XU, X. J.; GAO, F.; LIU, J.; ZHANG, C. X. Relationship between the honeydew of mealy bugs and the growth of *Phlebopus portentosus*. *PLoS ONE*, v. 15, n. 6, e0233710, 2020.

DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0233710>. Disponível em: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0233710>. Acesso em: 24 mai. 2026.

ERENCE, B. A.; GINSBERG, H. N.; GRAHAM, I.; RAY, K. K.; PACKARD, C. J.; BRUCKERT, E.; HEGELE, R. A.; KRAUSS, R. M.; RAAL, F. J.; SCHUNKERT, H.; WATTS, G. F.; BORÉN, J.; FAZIO, S.; HORTON, J. D.; MASANA, L.; NICHOLLS, S. J.; NORDESTGAARD, B. G.; VAN DE SLUIS, B.; TASKINEN, M. R.; TOKGÖZOGLU, L.; LANDMESSER, U.; LAUFS, U.; WIKLUND, O.; STOCK, J. K.; CHAPMAN, M. J.; CATAPANO, A. L. Low-density lipoproteins cause atherosclerotic cardiovascular disease. 1. Evidence from genetic, epidemiologic, and clinical studies. A consensus statement from the European Atherosclerosis Society Consensus Panel. *European Heart Journal*, v. 38, n. 32, p. 2459-2472, 2017. DOI: 10.1093/eurheartj/ehx144. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehx144>. Acesso em: 24 maio 2026.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. *FAOSTAT: crops and livestock products*. Roma: FAO, 2024. Disponível em: <https://www.fao.org/faostat/>. Acesso em: 22 mai. 2026.

GÓES-NETO, A.; LOGUERCIO-LEITE, C.; GUERRERO, R. T. DNA extraction from frozen field-collected and dehydrated herbarium fungal basidiomata: performance of SDS and CTAB-based methods. *Biotemas*, v. 18, n. 2, p. 19-32, 2005. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/26409839_DNA_extraction_from_frozen_field-collected_and_dehydrated_herbarium_fungal_basidiomata_Performance_of_SDS_and_CTA_B-based_methods. Acesso em: 22 mai. 2026.

GONÇALVES, C. R. Observations on *Pseudococcus comstocki* (Kuw. 1902) attacking Citrus in Baixada fluminense. *Rodriguesia*, v. 4, n. 12, p. 179-198, 1940. Disponível em: <https://www.cabidigitallibrary.org/doi/full/10.5555/19410500289>. Acesso em: 28 mar. 2026.

GUISSOU, M. L.; SANKARA, P.; GUINKO, S. *Phlebopus sudanicus* ou « la viande des Bobos », un champignon comestible dans le département de Satiri au Burkina Faso. *Cryptogamie, Mycologie*, v. 26, n. 3, p. 195-204, 2005. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/290024290_Phlebopus_sudanicus_or_la_viance_des_Bobos_edible_mushroom_in_Satiri_Burkina_Faso. Acesso em: 28 mar. 2026.

GUZMÁN, G.; CASTILLO-AYOUI, F.; GÁNDARA, E.; VIVERO, T. First record of the genus *Phlebopus* (Basidiomycotina, Boletales) in Ecuador. *Mycotaxon*, v. 99, p. 217-221, 2007. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/279516197_First_record_of_the_genus_Phlebopus_Basidiomycotina_Boletales_in_Ecuador. Acesso em: 22 mai. 2026.

HE, M.; ZHANG, C.; JI, K.; CAO, Y.; LIU, J.; WANG, W. Optimization of selected physical and nutritional parameters affecting the growth of *Phlebopus portentosus* mycelium. *Acta Edulis Fungi*, v. 16, n. 2, p. 45-48, 2009. DOI: <https://doi.org/10.16488/j.cnki.1005-9873.2009.02.011>. Disponível em: <https://doi.org/10.16488/j.cnki.1005-9873.2009.02.011>. Acesso em: 24 abr. 2026.

HEINEMANN, P.; RAMMELOO, J. Observations sur le genre *Phlebopus* (Boletineae). *Mycotaxon*, v. 15, n. 1, p. 384-404, 1982. Disponível em: <https://biotanz.landcareresearch.co.nz/references/f4869bcb-d381-4ef1-82e1-f8243aab01a8>. Acesso em: 24 mai. 2026.

HU, S.; XIANG, T.; ZHU, Z. *Meio de cultivo e método para cultivo de Phlebopus portentosus* (título traduzido). Depositante: Dongguan Dongyangguang Health Products R&D Co., Ltd. CN107162753B. Depósito: 14 jun. 2017. Concessão: 11 ago. 2020. Disponível em: <https://patents.google.com/patent/CN107162753B/>. Acesso em: 21/05/2026.

IndexFungorum. *Phlebopus* genus. Disponível em: <http://www.indexfungorum.org>. Acesso em: 11 mai 2026.

JI, K.; HE, M.; WANG, W.; ZHANG, C.; LIU, J.; CAO, Y. *Método de cultivo de Phlebopus portentosus*. CN101491195B, 2009. Disponível em: <https://patents.google.com/patent/CN101491195B/>. Acesso em: 24 maio 2026.

JI, K. P.; HE, M. X.; ZHANG, C. X.; LIU, J.; WANG, W. B.; HOU, J. Y. Semi-artificial simulate cultivation of *Phlebopus portentosus* and the durability of hyphae on host roots. *Microbiology*, v. 36, n. 3, p. 377-382, 2009. Disponível em: <https://wswwxtb.ijournals.cn/wswwxtbcn/article/abstract/tb09030377?st=search>. Acesso em: 05 mai. 2026.

JI, K. P.; CAO, Y.; ZHANG, C. X.; HE, M. X.; LIU, J.; WANG, W. B. Cultivation of *Phlebopus portentosus* in southern China. *Mycological Progress*, v. 10, n. 3, p. 293-300, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11557-010-0700-7>. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11557-010-0700-7>. Acesso em: 21 maio 2026.

JI, K. P.; WU, Y.; LIU, J.; et al. *Material de cobertura para cultivo artificial de Phlebopus portentosus*. Depositante: Yunnan Institute of Tropical Crops. CN102476973A. Depósito: 10 nov. 2011. Concessão: 30 maio 2012. Disponível em: <https://patents.google.com/patent/CN102476973A/>. Acesso em: 21 mai. 2026.

JIANG, L.; YANG, D.; CAO, Y.; WANG, P.; ZHANG, Y.; ZHANG, K. Q.; XU, J.; ZHANG, Y. The complete mitochondrial genome of the edible Basidiomycete mushroom *Phlebopus portentosus*. *Mitochondrial DNA Part B*, v. 2, n. 2, p. 696-697, 2017. DOI: 10.1080/23802359.2017.1383195. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33490472/>. Acesso em: 24 abr. 2026.

JIANG, H.; XU, J.; MORTIMER, P.; et al. *Método de cultivo de campo para Phlebopus portentosus*. Depositante: Kunming Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences. CN117837436A. Depósito: 4 mar. 2024. (em tramitação). Disponível em: <https://patents.google.com/patent/CN117837436A/>. Acesso em: 21 maio 2026.

KANG, Z.; YUAN, X.; ZHANG, C.; WANG, Y.; LI, L.; ZHENG, Y. Genomic and multi-omics analysis of *Phlebopus portentosus*: effects of cultivation on secondary metabolites. *Journal of Fungi*, v. 11, n. 4, 323, 2025. DOI: 10.3390/jof11040323. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC12028679/>. Acesso em: 24 abr. 2026.

KUMLA, J.; BUSSABAN, B.; SUWANNARACH, N.; LUMYONG, S.; DANELL, E. Basidiome formation of an edible wild, putatively ectomycorrhizal fungus, *Phlebopus portentosus* without host plant. *Mycologia*, v. 104, n. 3, p. 597-603, 2012. DOI: 10.3852/11-074.

KUMLA, J.; DANELL, E.; LUMYONG, S. Improvement of yield for a tropical black bolete, *Phlebopus portentosus*, cultivation in northern Thailand. *Mycoscience*, v. 56, n. 1, p. 114-117, 2015. DOI: 10.1016/j.myc.2014.04.005.

KUMLA, J.; HOBBIE, E. A.; SUWANNARACH, N.; LUMYONG, S. The ectomycorrhizal status of a tropical black bolete, *Phlebopus portentosus*, assessed using mycorrhizal synthesis and isotopic analysis. *Mycorrhiza*, v. 26, n. 4, p. 333-343, 2016. DOI: 10.1007/s00572-015-0672-1.

KUMLA, J.; SUWANNARACH, N.; LUMYONG, S. A new report on edible tropical bolete, *Phlebopus spongiosus* in Thailand and its fruiting body formation without the need for a host plant. *Mycobiology*, v. 48, n. 4, p. 263-275, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1080/12298093.2020.1784592>. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/12298093.2020.1784592>. Acesso em: 24 mai. 2026.

KUMLA, J.; SUWANNARACH, N.; TANRUEAN, K.; LUMYONG, S. Comparative evaluation of chemical composition, phenolic compounds, and antioxidant and antimicrobial activities of tropical black bolete mushroom using different preservation methods. *Foods*, v. 10, n. 4, p. 781, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/foods10040781>. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.3390/foods10040781>. Acesso em: 24 mai. 2026.

KUMLA, J.; SUWANNARACH, N.; LUMYONG, S. Cultivation of edible tropical bolete, *Phlebopus spongiosus*, in Thailand and yield improvement by high-voltage pulsed stimulation. *Agronomy*, v. 12, n. 1, p. 115, 2022. DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/agronomy12010115>. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.3390/agronomy12010115>. Acesso em: 24 mai. 2026.

KUMAR, S.; STECHER, G.; SULESKI, M.; SANDERFORD, M.; SHARMA, S.; TAMURA, K. Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 12 for adaptive and green computing. *Molecular Biology and Evolution*, v. 41, n. 1, p. 1-9, 2024. DOI: 10.1093/molbev/msad269. Disponível em: <https://www.megasoftware.net/citations>. Acesso em: 03 mai. 2026.

LIAOTRAKOON, W.; LIAOTRAKOON, V. Influence of drying process on total phenolics, antioxidative activity and selected physical properties of edible bolete *Phlebopus colossus* (R. Heim) Singer and changes during storage. *Food Science and Technology*, v. 38, n. 2, p. 231-237, 2018. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/1678-457x.34116>. Disponível em: https://www.scielo.br/j/bjft/a/WCsHVtPg6pCnRfbNvKdYVPB/?lang=en#B048_ref. Acesso em: 24 mai. 2026.

ŁUCZAJ, Ł.; LAMXAY, V.; TONGCHAN, K.; XAYPHAKATSA, K.; PHIMMAKONG, K.; RADAVANH, S.; KANYASONE, V.; PIETRAS, M.; KARBARZ, M. Wild food plants and fungi sold in the markets of Luang Prabang, Lao PDR. *Journal of Ethnobiology and*

Ethnomedicine, v. 17, p. 1-27, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13002-020-00423-y>. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s13002-020-00423-y>. Acesso em: 24 mai. 2026.

MADHOSINGH, C. Pigmented bacteriostatic substances and amino acids produced by *Phlebopus sulphureus* and *Phlebopus lignicola*. *Applied Microbiology*, v. 14, n. 3, p. 331-336, 1966. DOI: 10.1128/am.14.3.331-336.1966. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/4961551/>. Acesso em: 26 abr. 2026.

MAGNAGO, A. C. *Estudos taxonômicos e filogenéticos de fungos boletoides (Boletales) no Brasil*. 2018. Tese (Doutorado) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2018. Disponível em: <http://hdl.handle.net/10183/187210>. Acesso em: 26 abr. 2026.

MEI, Y.; LIU, C.-Y.; LI, S.-H.; GUERIN-LAGUETTE, A.; XIAO, Y.-J.; TANG, P.; WAN, S.-P.; BONITO, G.; WANG, Y. *Phlebopus roseus*, a new edible bolete from China, is associated with insects and plants. *Mycologia*, v. 113, n. 1, p. 33-42, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1080/00275514.2020.1816781>. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/00275514.2020.1816781>. Acesso em: 24 mai. 2026.

MENOLLI JR, N.; TRIERVEILER-PEREIRA, L.; ZIED, D. C.; PEREIRA, F. O.; SULZBACHER, M. A.; DRECHSLER-SANTOS, E. R.; COSTA-REZENDE, D. H.; WERNER, D.; CALAÇA, F. J. S.; ZABIN, D. A.; NASCIMENTO, C. C.; DREWINSKI, M. P. Hongos comestíveis en Brasil: estado actual del conocimiento, avances y perspectivas. *Lilloa*, v. 62, n. S1, p. 103-161, 2025. DOI: <https://doi.org/10.30550/j.lil/1879>. Disponível em: <https://doi.org/10.30550/j.lil/1879>. Acesso em: 24 mai. 2026.

MILLER JR, O. K.; LODGE, D. J.; BARONI, T. J. New and interesting ectomycorrhizal fungi from Puerto Rico, Mona, and Guana Islands. *Mycologia*, v. 92, n. 3, p. 558-570, 2000.

MORTIMER, P. E.; KARUNARATHNA, S. C.; LI, Q.; GUI, H.; YANG, X. Q.; YANG, J. B.; HYDE, K. D. Prized edible Asian mushrooms: ecology, conservation and sustainability. *Fungal Diversity*, v. 56, p. 31-47, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1007/s13225-012-0196-3>. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s13225-012-0196-3>. Acesso em: 24 mai. 2026.

NAIK, N. K.; NAIKA, R. Nutritional evaluation of three indigenous wild mushrooms of Western Ghats of Karnataka, India. *Annals of Ayurvedic Medicine*, v. 10, n. 4, p. 341-351, 2021. DOI: 10.5455/AAM.78116.

NEVES, M. A.; CAPELARI, M. A preliminary checklist of Boletales from Brazil and notes on Boletales specimens at the Instituto de Botânica (SP) Herbarium, São Paulo, SP, Brazil. *SITIENBIBUS série Ciências Biológicas*, v. 7, n. 2, p. 163-169, 2007. DOI: <https://doi.org/10.13102/scb8118>. Disponível em: <https://doi.org/10.13102/scb8118>. Acesso em: 24 abr. 2026.

NHI, L. T. T.; HIEU, T. C.; HANH, P. M.; TAN, B. V.; HOANG, P. N. D.; QUYEN, H. B. T. Mycelial cultivation of *Phlebopus spongiosus*, an edible ectomycorrhizal mushroom in Southern Vietnam. *Ho Chi Minh City Open University Journal of Science – Engineering and Technology*, v. 7, n. 1, p. 14-21, 2017. Disponível em: <https://journalofscience.ou.edu.vn/index.php/tech-en/article/view/364>. Acesso em: 28 mar. 2026.

OVREBO, C. L. New records of fleshy fungi from Venezuela. *Mycotaxon*, v. 18, n. 2, p. 355-356, 1983.

PALACIO, M.; GUTIÉRREZ, Y.; FRANCO-MOLANO, A. E.; CALLEJAS-POSADA, R. Nuevos registros de macrohongos (Basidiomycota) para Colombia procedentes de un bosque seco tropical. *Actualidades Biológicas*, v. 37, n. 102, p. 319-339, 2015.

PEGLER, D. N. *Agaric flora of the Lesser Antilles*. London: HMSO, 1983. (Kew Bulletin Additional Series, 9).

PRADO-ELIAS, A.; ALMEIDA, N. S. D.; RUAN-SOTO, F.; BALTAZAR, J. M.; TRIERVEILER-PEREIRA, L. *Phlebopus beniensis* (Singer & Digilio) Heinem. & Rammeloo (Boletiniellaceae, Basidiomycota, Fungi): novo registro para o Estado de São Paulo, Brasil e notas etnomicológicas. *Hoehnea*, v. 49, e532021, 2022. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/2236-8906-53/2021>. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/2236-8906-53/2021>. Acesso em: 24 mai. 2026.

PUTRA, I. P.; NURHAYAT, O. D.; SIBERO, M. T.; HERMAWAN, R.; KRISTANTO, M. A. The unpopular edible bolete (*Phlebopus portentosus*) in Indonesia. *HAYATI Journal of Biosciences*, v. 31, n. 4, p. 663-670, 2024. DOI: 10.4308/hjb.31.4.663-670. Disponível em: <https://journal.ipb.ac.id/hayati/article/view/52921>. Acesso em: 28 mar. 2026.

RAGHOONUNDON, B.; RASPÉ, O.; THONGKLANG, N.; HYDE, K. D. *Phlebopus* (Boletales, Boletiniellaceae), a peculiar bolete genus with widely consumed edible species and potential for economic development in tropical countries. *Food Bioscience*, v. 41, 100962, 2021. DOI: 10.1016/j.fbio.2021.100962.

ROBERTS, N.; ADAMATZKY, A. Mining logical circuits in fungi. *Scientific Reports*, v. 12, n. 1, 15930, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-022-20080-3>. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41598-022-20080-3>. Acesso em: 24 mai. 2026.

ROBLEDO, G.; BITTENCOURT, F.; KOSSMANN, T.; MARTINS DA CUNHA, K.; DRECHSLER-SANTOS, E. R. *Phlebopus bruchii*. *The IUCN Red List of Threatened Species* 2022: e.T211977955A211977990, 2022. DOI: <https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2022-1.RLTS.T211977955A211977990.en>. Disponível em: <https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2022-1.RLTS.T211977955A211977990.en>. Acesso em: 24 May 2026.

ROCHA, E. M. D.; ÁVILA, S.; LIMA, J. J.; SILVA, R. S. A.; MATHIAS, Á. L.; BACILA, D. M.; JORGE, R. M. M. Nutritional value and antioxidant activity of *Agaricus bisporus*, *Lentinula edodes* and *Pleurotus ostreatus* mushrooms. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, v. 97, n. 4, e20241454, 2025. DOI: 10.1590/0001-3765202520241454. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/0001-3765202520241454>. Acesso em: 08 mai. 2026.

SINGER, R.; ARAÚJO, I.; IVORY, M. H. *The ectotrophically mycorrhizal fungi of the neotropical lowlands, especially Central Amazonia*. Hirschberg: J. Cramer, 1983. (Nova Hedwigia, 77).

STAMETS, P. *Mycelium running: how mushrooms can help save the world*. Berkeley: Ten Speed Press, 2005.

SULZBACHER, M. A.; GREBENC, T.; JACQUES, R. J. S.; ANTONIOLLI, Z. I. Ectomycorrhizal fungi from southern Brazil – a literature-based review, their origin and potential hosts. *Mycosphere*, v. 4, n. 1, p. 61-95, 2013. DOI: 10.5943/mycosphere/4/1/5. Disponível em: https://www.mycosphere.org/pdfs/MC4_1_No5.pdf. Acesso em: 24 mai. 2026.

THONGKLANG, N.; HYDE, K. D.; BUSSABAN, B.; LUMYONG, S. Culture condition, inoculum production and host response of a wild mushroom, *Phlebopus portentosus* strain CMUHH121-005. *Maejo International Journal of Science and Technology*, v. 5, n. 3, p. 413-425, 2011.

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

WAN, J.-N.; LI, Y.; GUO, T.; JI, G.-Y.; LUO, S.-Z.; JI, K.-P.; CAO, Y.; TAN, Q.; BAO, D.-P.; YANG, R.-H. Whole-genome and transcriptome sequencing of *Phlebopus portentosus* reveals its associated ectomycorrhizal niche and conserved pathways involved in fruiting body development. *Frontiers in Microbiology*, v. 12, 732458, 2021. DOI: 10.3389/fmicb.2021.732458. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/journals/microbiology/articles/10.3389/fmicb.2021.732458/full>. Acesso em: 24 mai. 2026.

WANG, W.; LIU, J.; CAO, Y.; et al. *Uma solução nutritiva composta especial para supressão de fungos e aumento de produção para cobertura de Phlebopus portentosus* (tradução). Depositante: Yunnan Institute of Tropical Crops. CN104892095A. Depósito: 8 maio 2015. Concessão: 9 set. 2015. Disponível em: <https://patents.google.com/patent/CN104892095A/>. Acesso em: 21 maio 2026.

WANG, W.; CAO, Y.; ZHANG, C.; et al. *Formulação de cobertura para cultivo de Phlebopus portentosus e seu método de preparação*. Depositante: Yunnan Institute of Tropical Crops. CN106883020A. Depósito: 9 mar. 2017. Concessão: 23 jun. 2017. Disponível em: <https://patents.google.com/patent/CN106883020A/>. Acesso em: 21 maio 2026.

WATLING, R.; MEIJER, A. R. Macromycetes from the state of Paraná, Brazil: 5. Poroid and lamellate boletes. *Edinburgh Journal of Botany*, v. 54, n. 2, p. 231-251, 1997. DOI: <https://doi.org/10.1017/S0960428600004061>. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/231760282_Macromycetes_from_the_state_of_Parana_Brazil_5_Poroid_and_lamellate_boletes. Acesso em: 08 mai. 2026.

YAMADA, A. Current status and challenges of Japan's mushroom industry. *Panfungi*, v. 1, e006, 2026. DOI: 10.48130/panfungi-0025-0006. Disponível em: <https://doi.org/10.48130/panfungi-0025-0006>. Acesso em: 24 mai. 2026.

YANG, T.; LIU, J.; XU, X.; HE, M.; GAO, F.; FANG, Y.; WANG, W.; DAI, L.; WANG, Y.; ZHANG, C. Sclerotia formation of *Phlebopus portentosus* under natural and artificial conditions. *Forests*, v. 14, n. 6, 1096, 2023. DOI: <https://doi.org/10.3390/f14061096>. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/f14061096>. Acesso em: 08 mai. 2026.

YANG, T.; ZHANG, C.; LIU, J.; et al. *Método para rápida obtenção de mudas de plantas hospedeiras portadoras de fungo para cultivo biônico de Phlebopus portentosus e sua aplicação*. Depositante: Yunnan Institute of Tropical Crops. CN118177008A. Depósito: 26 abr.

2024. Publicação: 14 jun. 2024. Disponível em: <https://patents.google.com/patent/CN118177008A/>. Acesso em: 21 maio 2026.

ZHANG, C. X.; HE, M. X.; CAO, Y.; LIU, J.; GAO, F.; WANG, W. B.; WANG, Y. Fungus-insect gall of *Phlebopus portentosus*. *Mycologia*, v. 107, n. 1, p. 12-20, 2015. DOI: 10.3852/13-267. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.3852/13-267>. Acesso em: 08 mai. 2026.

ZHANG, C.; HE, M.; JING, L.; XU, X.; YUN, W. Brief introduction to a unique edible bolete – *Phlebopus portentosus* in southern China. *Journal of Agricultural Science and Technology B*, v. 7, n. 6, p. 386-394, 2017. DOI: 10.17265/2161-6264/2017.06.003. Disponível em: <https://doi.org/10.17265/2161-6264/2017.06.003>. Acesso em: 27 mar. 2026.

ZHANXI, L.; ZHANHUA, L. *Juncao technology*. Beijing: China Agricultural Sciencetech Press, 2001.