

ESTUDO COMPARATIVO DA CINÉTICA MICELIAL DOS COGUMELOS COMESTÍVEIS *Pleurotus ostreatus* E *Lentinula edodes* COMO CONTRIBUIÇÃO PARA CULTIVO EM RESÍDUOS LIGNOCELULÓSICOS

Jeovane Teixeira dos REIS¹; Ceci SALES-CAMPOS²; Meire Cristina Nogueira de ANDRADE³
¹Bolsista PIBIC/ CNPq/INPA; ²Orientadora CPPF/ INPA; ³Co-orientadora Bolsista DCR

1. Introdução

Desde os tempos remotos os cogumelos são utilizados pelo mundo como alimento e para fins medicinais e biotecnológicos (Chang e Miles, 2004). Há na indústria madeireira da região amazônica, uma grande quantidade de resíduos madeireiros, cujo potencial tem sido subestimado (Sales-Campos et al., 2000), assim como os agroindustriais (Sales-Campos, 2008). O cultivo de cogumelos representa uma alternativa viável de aproveitamento desses resíduos lignocelulósicos, para a conversão em produtos de elevado valor agregado (cogumelos comestíveis (Sales-Campos, 2008). Os cogumelos do gênero *Pleurotus* apresentam grande potencial de cultivo no Brasil em razão de sua maior rusticidade e facilidade de cultivo (Eira, 2004). Possuem elevado valor nutricional, sendo ricos em proteínas, fibras, carboidratos, vitaminas e minerais (Cohen et al., 2002; Bonatti et al., 2004; Silveira, 2003). O *L. edodes* é o segundo cogumelo mais cultivado no mundo (OEI, 2005), devido ao seu sabor exótico, rica composição nutricional e propriedades terapêuticas. O cultivo de *L. edodes* em materiais lignocelulósicos requer um estudo sobre os diversos fatores que afetam o crescimento micelial e a produção do corpo de frutificação. Entre estes fatores estão a composição e o pH do meio de cultura (Kües e Liu, 2000). Neste sentido, foram testados meios de cultura a partir da infusão de resíduos madeireiros e agroindustriais regionais com o fim de comparação da cinética micelial entre as espécies dos fungos comestíveis *Pleurotus ostreatus* e *Lentinula edodes* como contribuição para o cultivo destes cogumelos em resíduos regionais.

2. Material e métodos

O presente trabalho foi executado na Coordenação de Pesquisas em Produtos Florestais (CPPF/INPA), no Laboratório de Cultivo de Fungos Comestíveis. O crescimento micelial de *P. ostreatus* e de *L. edodes* foi avaliado em diferentes meios de cultura, a partir de resíduos lignocelulósicos na tentativa de buscar substratos alternativos para cada linhagem fúngica, dando assim suporte à etapa de produção dos referidos cogumelos. As linhagens foram oriundas da coleção da FCA-UNESP. O trabalho obedeceu as seguintes etapas:

Seleção de resíduos

A seleção de resíduo foi efetuada em função de resíduo lignocelulósico regional de origem madeireira e agroindustrial, com potencial para produção de fungo comestível. Tal seleção foi baseada na produção de resíduos locais. Foram coletadas como matéria prima para elaboração dos substratos, resíduos madeireiros: serragem de *Simarouba amara* Aubl. (marupá), e de *Anacardium spruceanum*, Benth. Ex Eng. (cajuí). Para isto foram selecionadas serragens oriundas de pesquisas da Coordenação de Pesquisas de Produtos Florestais do CPPF/INPA, livre de aplicação de preservantes químicos. O material foi processado na serraria da CPPF e seco em secador solar da mesma coordenação, os quais foram armazenados em depósitos plásticos até a formulação dos substratos. Como resíduos agroindustriais foram coletados talos de bananas e sementes de açaí. Estes foram triturados em triturador de forrageira, DPM4, seguindo o mesmo processo de secagem e armazenamento que os resíduos anteriores.

Produção do inóculo

Foi realizada a multiplicação das espécies fúngicas para obtenção de linhagens viáveis para ensaios subsequentes. Este procedimento, que corresponde na preparação do inóculo (matriz primária) foi feito através da transferência de pequenos pedaços do micélio do fungo (contido em tubos de ensaio) para a placa de Petri, contendo meio Malte-Agar, conforme Urben et al. (2003).

Cinética micelial das espécies fúngicas.

O experimento do crescimento micelial dos fungos *P. ostreatus* e *L. edodes*, foi conduzido em placas de Petri, em meios de cultura elaborados a partir da infusão dos substratos de cultivo, tipo SDA: substrato-dextrose-Agar, para evitar mutantes auxotróficos (Eira & Montini, 1997; Eira et al., 1997, Sales-Campos, 2008), utilizando-se em base seca, 100g de substrato/L final de infusão, conforme protocolo apresentado na Tabela 1. Os meios de cultura foram preparados a partir da infusão do substrato em 1,5L de água fervente durante 30 minutos, filtrando-se em algodão e completando-se o volume para 1L. Após a filtração, foram adicionados aos meios 12g de dextrose e 15g de agar/L de meio. Como controle foi utilizado o meio de cultura Malte-Agar. Tais meios

foram oriundas dos resíduos madeireiros e agroindustriais, pré-selecionadas para posterior produção do cogumelo.

Tabela 1. Proporção da mistura de ingredientes utilizados em cada formulação de meio de cultura em base seca.

Meio	Ingredientes %					
	Serragem de marupá	Serragem de cajuí	Semente de açaí	Talo de banana	Farelo de cereais **	CaCo ₃
MALTE-AGAR (controle) *						
SDA-MA	78				20	2
SDA-CA		78			20	2
SDA-AÇA			78		20	2
SDA-BAN 100%				78	20	2
SDA-BAN 50%				39	10	1

* Meio controle (Urban *et al.*, 2003).

** Mistura de farelo de arroz, trigo e milho na proporção 6:2:2.

O crescimento micelial foi conduzido conforme Maziero (1990) e Sales-Campos (2008). Foram testadas seis repetições por meio. A mensuração foi feita diariamente, até a colonização total do fungo no meio de cultura, sendo paralisado, quando um dos fungos atingiu a borda da placa de um dos meios, ocorrido no sétimo dia de incubação. O delineamento experimental utilizado para a avaliação do crescimento micelial das espécies fúngicas foi inteiramente ao acaso, em esquema fatorial 6 X 2 com 12 tratamentos, cujos tratamentos corresponderam às combinações das espécies de fungos comestíveis (2) com os tipos de meio de cultura (6). Cada tratamento foi composto por seis repetições, sendo cada repetição correspondente a uma placa de Petri, num total de 72 placas.

3. Resultados e discussão

Comparando o crescimento micelial das linhagens LE 96/13 com POS 09/100 nos diferentes meios avaliados, observaram-se diferenças significativas em todos os meios testados, exceto para o meio elaborado a partir do talo da banana, na formulação BAN 100% (Tabela 2), onde o crescimento micelial foi semelhante para ambas as linhagens. No entanto, este foi o meio que proporcionou o pior desenvolvimento micelial. Resultados semelhantes foram obtidos por Motato *et al.* (2006), quando cultivaram *Pleurotus djamor* em meios de cultura a partir do talo da banana. É provável que em ambos os estudos, possa estar havendo toxicidade dos meios de cultura preparados com o talo da banana, em função de compostos fenólicos como taninos que podem estar presentes nestes meios, uma vez que estes constituintes químicos são relatados como anti-parasitas e fungicidas numa revisão feita por Olivo *et al.* (2007). Porém outras formulações necessitam ser realizadas, pois quando se reduziu a quantidade de talo da banana, conseguiu-se melhor desempenho micelial em ambas as linhagens, podendo ser observado no meio BAN 50% (Tabela 2). Outro fator que inibe o crescimento do fungo é o excesso de nitrogênio (Maziero, 1990; Sales-Campos, 2008), que também poderá ter contribuído para reduzir o crescimento micelial no meio BAN 100%. No entanto, análises destes componentes não foram feitas no presente estudo. Bitencourt (2007) utilizou diferentes concentrações dos resíduos estipe e bainha mediana da palmeira real como substratos base, e dois suplementos (farelo de soja e bagaço de mandioca), para avaliar o crescimento micelial radial da mesma linhagem *Lentinula edodes* (LE-96/13) utilizada no presente estudo. Entre os dois resíduos testados, a autora encontrou melhor crescimento micelial da linhagem nas formulações com o estipe da palmeira. O crescimento micelial ao longo de sete dias para este resíduo (5 a 15 mm), no entanto, foi inferior ao crescimento ocorrido nos diversos meios testados no presente estudo, com a mesma linhagem, como pode ser observado na Tabela 2.

Tabela 2. Crescimento micelial (mm) dos fungos comestíveis *Pleurotus ostreatus* (P. OS 09/100) e de *Lentinula edodes* (LE 96/13) em diferentes meios de cultura a base de resíduos madeireiros e agroindustriais, após 7 dias de incubação a 25 °C.

Fungos	Meios de Cultura					
	MALTE	SDA-MA	SDA-CA	SDA-AÇA	BAN 50%	BAN 100%
LE 96/13	62,17 Aa	32,00 BCb	31,66 BCb	27,66 CDb	37,33 Bb	21,83 Db
P. OS 09/100	60,33 Ba	81,00 Aa	64,66 Ba	81,00 Aa	50,16 Ca	33,33 Da

Médias seguidas de letras iguais, maiúscula em cada linha e minúscula em cada coluna, não diferem entre si pelo teste Tukey ($p < 0,05$).

Observa-se que para *L. edodes* (LE 96/13) o melhor crescimento ocorreu no meio Malte (62,17mm), seguido de BAN 50%, com crescimento de 37,33mm, que por sua vez não diferiu dos meios a partir da serragem de marupá, SDA-MA e de cajuí, SDA-CA, que apresentaram crescimento de 32,00 e 31,66mm, respectivamente, ao final de sete dias. Para *P. ostreatus* (09/100), os melhores resultados ocorreram para os meios a partir da semente de açaí (SDA-AÇA) e de serragem de marupá (81 mm), os quais não diferiram estatisticamente, seguidos dos meios SDA-CA e de Malte, que apresentaram crescimentos semelhantes, 64,66 e 60,33mm, para os respectivos meios. De forma geral observa-se que o melhor crescimento ocorreu para a espécie *P. ostreatus* em todos os meios, exceto para o Malte, onde o melhor desempenho ocorreu para *L. edodes*. Sales-Campos et al. (2008) avaliaram o crescimento micelial de uma linhagem de *P. ostreatus* de ocorrência na Amazônia em diferentes meios de cultura e obtiveram o melhor crescimento da linhagem para o meio Malte, seguido de SDA-MA. O crescimento micelial varia de acordo com a espécie fúngica, característica genética da linhagem, meio de cultura, suplementação, luz e temperatura (Zadrazil, 1978; Miles; Chang, 1997, Regina, 2004; Andrade et al., 2008; Costa et al, 2008; Sales-Campos et al, 2008). A figura 1 ilustra o comportamento do crescimento micelial de *P. ostreatus* e *L. edodes* nos diferentes meio de cultura ao longo do tempo (7 dias de desenvolvimento *in vitro*). Os resultados comprovam um crescimento progressivo para as espécies analisadas, resultando em um aumento linear ao longo do tempo para ambas as espécies. No entanto, o crescimento micelial foi mais rápido para a espécie *P. ostreatus*, em todos os meios, exceto para Malte e BAN 100%. Tal comportamento é natural para *P. ostreatus*, pois trata-se de uma espécie mais competitiva que *L. edodes* (Sales-Campos, (2008)*.

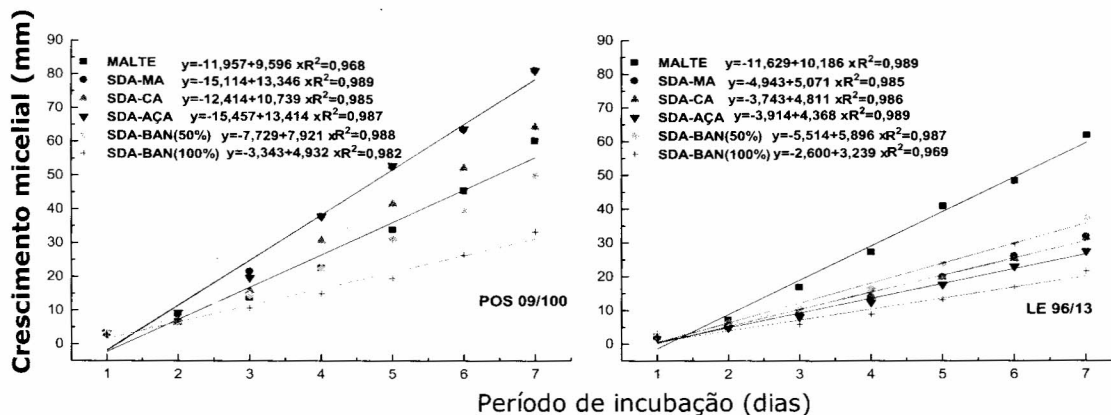


Figura 1 - Cinética do crescimento micelial dos fungos comestíveis *Pleurotus ostreatus*, (POS 09/100) e de *Lentinula edodes* (LE 96/13) em diferentes meios de cultura a 25 °C.

4. Conclusões

- Os resultados comprovam um crescimento micelial progressivo para *L. edodes* e *P. ostreatus*, resultando em um aumento linear ao longo do tempo para ambas as espécies fúngicas.
- O melhor crescimento micelial para *L. edodes* ocorreu no meio Malte.
- *Pleurotus ostreatus* apresentou melhor desenvolvimento micelial em relação a *L. edodes*.
- Os resíduos testados indicam potencial de aproveitamento na fungicultura, pois possibilitaram bom crescimento micelial, exceto o resíduo da banana (100%).

5. Referências

Bonatti, M.; Karnopp, P.; Soares, H. M., Furlan, S. A. 2004. Evaluation of *Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus sajor-caju* nutritional characteristics when cultivated in different lignocellulosic wastes. *Food Chemistry*, 88 (3): 425-428.

Chang, S.T.; Miles, P.G. 2004. *Mushrooms: cultivation, nutritional value, medicinal effect, and environmental impact*. 2. ed. Shu-Ting Chang: CRC Press.

Cohen, R.; Persky, L.; Hadar, Y. 2002. Biotechnological applications and potential of wood-degrading mushrooms of the genus *Pleurotus*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, Berlin,

58(5): 582-594. Eira, A. F.; Montini, R. M. C. 1997. *Manual do cultivo do Shiitake (Lentinula edodes (Berk) Pegler)*. UNESP/FEPAP. Botucatu, 38p.

Eira, A. F.; Minihoni, M. T. A.; Braga, G. C.; Montini, R. M. C.; Ichida, M. S.; Marino, R. H.; Colauto, N. B.; Silva, J.; Neto, F. J. 1997. *Manual teórico/ prático do cultivo de cogumelos comestíveis*. UNESP/FEPAP. Botucatu, 115p.

Eira, A.F. 2004. Fungos comestíveis. In: Espósito, E.; Azevedo, J.L. (Ed.). *Fungos: uma introdução à biologia, bioquímica e biotecnologia*. Caxias do Sul: Educs, 510p.

Kües; Liu, 2000. *Fruiting body production in basidiomycetes Appl Microbiol Biotechnol* n. 54, p. 141-152.

Maziero, R. 1990. *Substratos alternativos para o cultivo de Pleurotus spp.* Dissertação de mestrado em Ciências Biológicas-Botânica. Instituto de Biociências. USP. S. Paulo, 136p.

Miles, P. G., Chang, S. T. 1997. *Mushroom biology: concise basics and current developments*. Singapore: Word Scientific Publishing Co., 194p.

Motato, R. K. E; Mejía, G. A. I.; León, P. A. 2006. Evaluación de los residuos agroindustriales de plátano (*Musa paradisíaca*) y aserrín de abarco (*Cariniana piriformes*) como sustratos para el cultivo del hongo *Pleurotus djamor*. *Vitae*, Medellín, 13(1):24-29.

Oei, P. 2005. *Mushroom cultivation*. Backhuys Publishers: Netherlands. 3rd edition. 429p.

Sales-Campos, C., Abreu, R.L.S., Vianez, B.F. 2000. Condições de uso e processamento de madeira nas indústrias madeireiras de Manaus, Amazonas, Brasil. *Acta Amazonica*, 30 (2): 319-331.

Sales-Campos, C; Jesus, M. A; Eira, A. F.; Campagnolli, F. 2005. Cinética do crescimento micelial do fungo comestível *Pleurotus ostreatus*, como subsídio para posterior cultivo do cogumelo em resíduo madeireiro da região Amazônica. In: Anais do XXIII Congresso Brasileiro de Microbiologia. Santos, SP.

Sales-Campos, C. 2008. *Aproveitamento de resíduos madeireiros e da agroindústria regional para o cultivo de fungos comestíveis de ocorrência na região amazônica*. Tese (Doutorado em Biotecnologia) – Universidade Federal do Amazonas, Manaus. 182 pp.

Silveira, M. L. L. 2003. *Comparação entre o desempenho do inoculo sólido e inoculo líquido para o cultivo de Pleurotus ostreatus DSM 1833*. Dissertação de Mestrado em Engenharia Química, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.

Snedcor, G.W.E.; Cochran, W.G. 1967. *Statistical methods*. 6.ed. Ames: Iowa State University Press, 593p.

Urban A. F.; Uriartt, A. H.; Amazonas, M. A. L.; Oliveira, H. C. B.; Correa, M. J.; Vieira, V. 2003. *Cultivo de cogumelos comestíveis e medicinais* (apostila do curso) EMBRAPA. Brasília, DF. 169p.

Zadrazil, F. 1978. Cultivation of *Pleurotus*. In: Ghang, S. T.; Hayes W. A (eds.). *The biology and cultivation of edible mushrooms*. New York: Academic Press, p. 521-557.