

APLICAÇÃO DE CASCAS DOS FRUTOS DE TUCUMÃ E DE CUPUAÇU COMO SUPLEMENTO NO CULTIVO *IN VITRO* DE LINHAGENS DE SHIITAKE

Lorena Vieira Bentolila de AGUIAR¹; Meire Cristina Nogueira de ANDRADE²; Ceci SALES-CAMPOS³
¹Bolsista PIBIC/CNPq/INPA; ²Orientadora - CPPF /INPA; ³Colaboradora - CPPF/INPA

1. Introdução

O shiitake - *Lentinula edodes* (Berk.) Pegler - é um fungo comestível apreciado pelo seu alto valor gastronômico, nutricional e medicinal, além da sua habilidade de degradação de resíduos lignocelulósicos (Minhoni *et al.*, 2007). É classificado como pertencente à Divisão Basidiomycota, Classe Basidiomycetes, Subclasse Holobasidiomycetidae, Ordem Agaricales e Família Tricholomataceae (Alexopoulos *et al.*, 1996).

O *L. edodes* é capaz de degradar diversos resíduos para obter compostos como carbono e nitrogênio, entre outros, essenciais para seu crescimento (Donini *et al.*, 2006). Com a demanda de resíduos que é descartada no meio ambiente, sua habilidade de degradação vem como uma alternativa para o aproveitamento desses resíduos como substratos no cultivo de cogumelos comestíveis, diminuindo impactos ambientais ocasionados pelos mesmos e gerando produtos altamente nutritivos (Eira, 2000).

Para se viabilizar economicamente a produção de cogumelos comestíveis, como o *L. edodes*, em uma determinada região, é recomendado o aproveitamento de resíduos localmente abundantes com baixo ou nenhum valor comercial (Sales-Campos, 2008). Por isso é importante avaliar a utilização das cascas dos frutos de tucumã (*Astrocaryum aculeatum* Meyer) e de cupuaçu (*Theobroma grandiflorum* Schum) para esta finalidade, já que são frutos abundantes na região e com inúmeras potencialidades, como as alimentícias e artesanais (Costa *et al.*, 2005; Ribeiro, 1996). Contudo, suas cascas ainda não têm muitas alternativas de utilização.

Outro fator fundamental para um cultivo produtivo de *L. edodes*, além do substrato, são as linhagens, as quais podem diferir quanto à velocidade de crescimento, preferências por certas temperaturas, substratos e suplementos, à resistência a contaminantes, características físico-químicas e à produtividade, fatores determinantes para o cultivo (Przybylowicz e Donoghue, 1990). Conhecer as diferenças existentes entre substratos para a escolha do substrato mais adequado e utilizar linhagens mais adaptadas a certos substratos é uma forma de aumentar a produção de *L. edodes*, já que, segundo Silva *et al.* (2005), o crescimento micelial influencia a produção de cogumelos, já que a formação de primórdios está diretamente relacionada com a biomassa micelial que é formada durante o crescimento fúngico. Dessa forma, este estudo teve como objetivo comparar o crescimento micelial de algumas linhagens de *L. edodes* em meios de cultura à base de serragem de eucalipto, suplementados com farelos das cascas dos frutos do tucumã e do cupuaçu, a fim de se verificar a potencialidade desses resíduos regionais.

2. Material e Métodos

O experimento foi desenvolvido no Laboratório de Cultivo de Fungos Comestíveis, da Coordenação de Pesquisas em Produtos Florestais – CPPF/ INPA, Manaus-AM. Foram utilizadas dez linhagens de *L. edodes* procedentes da Micoteca do Módulo de Cogumelos da Faculdade de Ciências Agrônomicas/ UNESP, Botucatu-SP. Tais linhagens são identificadas como: LED 12 - Obtida de faculdades canadenses (Origem desconhecida, 1980), LED 20 - Cogumelo Comercial (Osaka, Japão, 1973), LED 25 - Cogumelo Comercial (Osaka, Japão, 1973), LED 27 - Linhagem Comercial Francesa S600 (Micélio Francês, 1989), LED 33 - Linhagem Comercial Francesa V084 (Le Lion, 1989), LED 35 - Linhagem Comercial Francesa 072 (Lê Champion, 1989), LED 51 - Linhagem Comercial Americana M111 (Lamber Spawn, 1989), LED 55 - China LKO 3 (Origem desconhecida, 1990), LED 58 - Cogumelo Comercial (Japão, 1990) e LED 75 - Híbrido obtido em INRA (1989).

Foi utilizado um delineamento experimental inteiramente casualizado em esquema fatorial 10 x 3, cujos tratamentos corresponderam às combinações de dez diferentes linhagens de *L. edodes* e três tipos de farelos utilizados como suplemento a 20%, para um meio à base de serragem de eucalipto, somando 30 tratamentos. Cada tratamento constou de quatro repetições, sendo cada repetição correspondente a uma placa de Petri, totalizando 120 placas. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de significância.

Foram utilizados os resíduos de serragem de eucalipto (*Eucalyptus* sp.) e os farelos da casca do fruto do tucumã (*A. aculeatum*), farelo da casca do fruto do cupuaçu (*T. grandiflorum*) e farelo de trigo (*Triticum aestivum*), sendo que este último foi considerado testemunha, uma vez que é

comumente utilizado como suplemento no cultivo de *L. edodes*. As cascas foram adquiridas nas feiras de hortifruti de Manaus, secas ao sol, trituradas e conservadas até a utilização no preparo dos meios de cultura.

Os meios de cultura utilizados na avaliação do crescimento micelial das linhagens de *L. edodes* foram elaborados com a mistura de substratos preparados à base de serragem de eucalipto suplementada com 20% de farelo de trigo, farelo das cascas dos frutos de tucumã e de cupuaçu. Dessa maneira, no total, foram preparados três tipos de substratos distintos. Após serem misturados, os ingredientes foram umidificados com água destilada até a obtenção de 60% de umidade e autoclavados a 121 °C por meia hora. Após esse processo, 20g de cada substrato foram submetidas à fervura em 250 mL de água destilada por 15 minutos e foi feita a filtração em peneira comum com uma manta de algodão. O extrato obtido (filtrado) foi disposto em frascos Duran, foram adicionadas 5g de ágar em cada frasco e os mesmos foram autoclavados por 30 minutos. Após o resfriamento dos meios de cultura até 45-50 °C estes foram vertidos em placas de Petri previamente esterilizadas em câmara de fluxo laminar.

Após a solidificação dos meios de cultura, discos de 7 mm de diâmetro de cada uma das linhagens de *L. edodes* foram transferidos para as placas de Petri contendo os meios de cultura previamente preparados. As placas foram distribuídas inteiramente ao acaso e mantidas em estufa incubadora a 25 °C. Durante este período, a cada 24 horas, a partir da data de inoculação, com auxílio de uma régua milimetrada, foram realizadas quatro medições equidistantes do crescimento radial do micélio, até que, em um dos tratamentos, o micélio atingiu a proximidade das bordas da placa.

3. Resultados e Discussão

A análise de variância apresentou efeito de interação significativa entre os fatores "meio de cultura" e "linhagem", para o crescimento micelial. Na Tabela 1 encontra-se a comparação das médias levando-se em conta os diferentes níveis dos dois fatores.

Tabela 1. Crescimento micelial (mm) de dez linhagens de *L. edodes* em meios de cultura à base de extrato de serragem de eucalipto com 20% de suplementação de diferentes farelos a 25 °C, após oito dias de incubação.

Linhagens	Tipo de farelos (%)		
	Cupuaçu	Trigo	Tucumã
LED 12	42,91 EF b	50,35 D a	49,66 BC a
LED 20	62,50 A a	65,35 A a	58,16 A b
LED 25	39,53 F b	48,25 D a	47,00 CD a
LED 27	29,28 G b	34,38 F a	32,10 F ab
LED 33	47,16 DE b	55,00 C a	50,03 BC b
LED 35	46,13 DE b	50,35 D a	44,75 D b
LED 51	40,38 F a	40,47 E a	36,85 E b
LED 55	55,81 B b	61,69 AB a	53,97 AB b
LED 58	49,91 CD c	61,66 AB a	55,69 A b
LED 75	54,00 BC b	58,63 BC a	55,94 A ab

(1) Médias seguidas de letras iguais, maiúscula em cada coluna e minúscula em cada linha, não diferem entre si ($p < 0,05$). CV (%) = 4,08.

Para as linhagens LED 12 e LED 25, nas comparações entre meios de cultura suplementados com diferentes farelos, os farelos de trigo e de casca de tucumã obtiveram os melhores resultados após oito dias de crescimento, não apresentando diferenças significativas entre si (Tabela 1). Já para as linhagens LED 20 e LED 51 foram os meios suplementados com farelo de trigo e de casca de cupuaçu que obtiveram os melhores resultados. Para as linhagens LED 33, LED 35, LED 55 e LED 58, o meio com farelo de trigo obteve as maiores médias de crescimento. Donini *et al.* (2006), que utilizaram os farelos de soja, trigo, milho e arroz em diferentes concentrações em meios a base de capim-elefante para cultivar três linhagens de *Pleurotus ostreatus* observaram que, a 20% de suplementação, soja e trigo obtiveram os melhores resultados para a linhagem BF24 e soja, trigo e milho para as linhagens DF33 e HF19, confirmando as necessidades nutricionais diferentes de cada linhagem. Andrade *et al.* (2007) comparando oito linhagens de *L. edodes* em serragem de eucalipto identificaram que a linhagem LE-98/55 e LE-96/13 obtiveram as maiores médias de crescimento, após dez dias de desenvolvimento, assim como algumas linhagens se destacaram mais do que as outras nesse trabalho.

Comparando-se o crescimento micelial dentro de cada meio de cultura (Tabela 1), para o meio suplementado com farelo de casca de cupuaçu, a linhagem que obteve as melhores médias de crescimento foi a LED 20. Já nos meios suplementados com farelo de trigo, novamente a linhagem LED 20 obteve as melhores médias de crescimento micelial, no entanto, não diferiu estatisticamente das linhagens LED 55 e LED 58. Para o meio suplementado com farelo de casca de tucumã, os melhores resultados foram obtidos para as linhagens LED 20, LED 55, LED 58 e LED 75, sem diferenças significativas entre si. Montini *et al.* (2006) comparando as linhagens LE-96/17, LE-98/51, LE-98/53 e LE-98/56 em meios à base de serragem com farelos de trigo e arroz e serragem com bagaço de cana de açúcar suplementados, verificou que, as linhagens também apresentaram preferências por meios diferentes e, para as linhagens LE-96/17 e LE-98/53 os meios de serragem e serragem com bagaço apresentaram os melhores resultados. Já para a linhagem LE-98/51 apenas o meio de serragem foi o que obteve as maiores médias. Finalmente para linhagem LE-98/56 o meio de serragem com bagaço foi o que obteve o resultado mais satisfatório.

4. Conclusão

Os farelos das cascas dos frutos de tucumã e de cupuaçu podem ser uma boa alternativa a ser utilizada como suplemento com a finalidade de viabilizar o cultivo de shiitake no Amazonas, já que obtiveram bons resultados. Dentre as linhagens, a que mais se destacou foi a LED 20, que cresceu bem em todos os meios utilizados, comprovando a necessidade de estudos acerca de linhagens mais adaptadas a certos tipos de resíduos, a fim de se conseguir um cultivo futuro mais produtivo.

5. Referências

- Alexopoulos, C.J.; Mims, C.W.; Blackwell, M. 1996. *Introductory mycology*. 4 ed. John Wiley & Sons, New York, USA. 869pp.
- Andrade, M.C.N.; Calonego, F.W.; Minhoni, M.T.A.; Severo, E.T.D.; Kopytowski Filho, J. 2007. Avaliação do crescimento micelial de linhagens de shiitake, da produção em toras de eucalipto e de alterações físicas da madeira. *Acta Scientiarum Agronomy*, 29: 23-27.
- Costa, J.R.; Leeuwen, J.; Costa, J.A. 2005. Tucumã-do-amazonas. In: Shanley, P.; Medina, G. (eds). *Frutíferas e plantas úteis na vida amazônica*. CIFOR, Imazon, Belém, PA. p. 215-220.
- Donini, L.P.; Bernardi, E.; Minotto, E.; Nascimento, J. S. 2006. Efeito da suplementação com farelos no crescimento in vitro de *Pleurotus ostreatus* em meios à base de capim-elefante (*Pennisetum* spp.). *Arquivos do Instituto Biológico*, 73(3): 303-309.
- Eira, A.F. 2000. Cultivo de cogumelos (compostagem, condução e ambiente). In: *Anais da III Reunião Itinerante de Fitossanidade do Instituto Biológico*. Mogi das Cruzes, São Paulo. p. 83-95.
- Minhoni, M.T.A.; Andrade, M.C.N.; Zied, D.C.; Kopytowski Filho, J. 2007. *Cultivo de Lentinula edodes (Berk.) Pegler-(Shiitake)*. 3.ed. FEPAF, Botucatu, SP. 91pp.
- Montini, R.M.C.; Passos, J.R.S.; Eira, A.F. 2006. Digital monitoring of mycelium growth kinetics and vigor of shiitake (*Lentinula edodes* (Berk.) Pegler) on agar medium. *Brazilian Journal of Microbiology*, 37: 90-95.
- Przybylowicz, P.; Donoghue, J. 1990. *Shiitake grower's handbook: the art and science of mushroom cultivation*. Kendall, Dubuque.
- Ribeiro, G.D. 1996. Situação atual e perspectivas da cultura do cupuaçuzeiro (*Theobroma grandiflorum*, Schum) no Estado de Rondônia, Brasil. In: *Anais - Seminário Internacional sobre pimenta-do-reino e cupuaçu*. 7 pp.
- Sales-Campos, C. 2008. *Aproveitamento de resíduos madeireiros e da agroindústria regional para o cultivo de fungos comestíveis de ocorrência na região amazônica*. Tese de Doutorado, Universidade Federal do Amazonas, Manaus, Amazonas. 182 pp.
- Silva, E.M.; Machuca, A.; Milagres, A.M.F. 2005. Effect of cereal brans on *Lentinula edodes* growth and enzyme activities during cultivation on forestry waste. *Letters in Applied Microbiology*, 40: 283-288.