

CULTIVO EXPERIMENTAL DE *Pleurotus ostreatus* E *Lentinula edodes* EM RESÍDUOS REGIONAIS

Lorena Vieira Bentolila de AGUIAR¹; Ceci SALES -CAMPOS².

¹Bolsista PIBIC/CNPq; ²Orientador CPPF/INPA;

1. Introdução

Fungos lignocelulolíticos como *Pleurotus ostreatus* (Jacq.: Fr.) Kummer e *Lentinula edodes* Berk Pegler, além da importância gastronômica, possuem a capacidade de degradar diferentes tipos de resíduos, aproveitando a matéria orgânica e viabilizando sua transformação em produtos de elevado valor nutricional e alto valor agregado, que são os cogumelos (Eira, 2000). Segundo o autor, com o exacerbado descarte de resíduos no meio ambiente, a habilidade degradativa desses fungos vem como uma forma de utilização desses resíduos como substratos no cultivo de cogumelos comestíveis, diminuindo os impactos ambientais ocasionados por estes. Para se viabilizar economicamente o cultivo de cogumelos comestíveis em uma determinada região é preciso aproveitar resíduos localmente abundantes com baixo ou nenhum valor comercial (Sales-Campos, 2008). Dá-se aí a importância de se avaliar a utilização de resíduos abundantes na região para esta finalidade. Existe uma grande quantidade de resíduos madeireiros, agrícolas e agroindustriais que apresentam potencial para utilização no cultivo de fungos comestíveis na região amazônica. A casca do cupuaçu (*Theobroma grandiflorum* Schum), o engaço da banana (*Musa* sp.), o caroço de açaí (*Euterpe precatoria* Mart) e a serragem de cajuí (*Anacardium giganteum* Hanc ex. Engl) são alguns dos resíduos desperdiçados na região e que necessitam de alternativas. Desta forma, foi realizado um cultivo experimental de *P. ostreatus* e *L. edodes* nestes diferentes insumos regionais, onde foram avaliados o crescimento micelial e o desenvolvimento destes fungos em diferentes substratos elaborados a partir dessas matérias-primas, visando futura utilização destas linhagens em cultivo de cogumelos na região e incentivando o aproveitamento de subprodutos da Amazônia.

2. Material e Métodos

No experimento foram utilizados os resíduos cascas de cupuaçu (*T. grandiflorum*) e engaço de banana (*Musa* sp.), os quais foram coletados em feiras da cidade de Manaus. As sementes de açaí (*E. precatoria*), foram coletadas no município de Codajás e a serragem de cajuí (*A. giganteum*) foi procedente de pesquisas da CPPF. O engaço e a semente de açaí foram triturados em triturador (DPM-4, 3300 RPM) e seco ao ar livre. Os demais foram triturados no triturador do setor de aglomerado da CPPF. Após o processo foram armazenados em recipientes plásticos até a formulação dos substratos. O farelo de trigo (*Triticum aestivum* L.), utilizado como um dos suplementos, foi adquirido no comércio local de Manaus. Foram utilizadas as linhagens POS 09/100 de *P. ostreatus* e LED 96/13 de *L. edodes*, procedentes da Micoteca do Módulo de Cogumelos da FCA/ UNESP, Botucatu-SP. No preparo dos substratos de cultivo utilizados nesse experimento, seguiu-se a metodologia de Sales-Campos (2008) com as proporções apresentadas na Tabela 1, sendo os farelos de trigo e de cupuaçu utilizados como suplementos. Os substratos foram misturados, umedecidos em torno de 75% de umidade e dispostos em frascos de vidro que foram esterilizados em autoclave a 121 °C/1 atm, resfriados à temperatura ambiente e inoculados em câmara de fluxo laminar esterilizada com as linhagens já citadas. Os frascos foram depositados em BOD a temperatura de 25 °C.

Tabela 1 - Proporção (%) da mistura de ingredientes para cada formulação de substrato.

Substrato	Ingredientes (%)				
	Caroço de Açaí (AÇA)	Serragem de Cajú (CAJ)	Engaço de banana (BAN)	Farelo de trigo (FT) ou casca de cupuaçu (FC)	CaCO ₃
AÇA FC e AÇA FT	78			20	2
BAN AÇA FC e BAN AÇA FT	39		39	20	2
BAN CAJ FC e BAN CAJ FT		39	39	20	2
CAJ FC e CAJ FT			78	20	2

AÇA= açaí, BAN AÇA= banana com açaí, BAN CAJ= banana com cajú, CAJ= cajú. Suplementos (FT= farelo de trigo, FC= farelo de cupuaçu).

Para avaliação do crescimento micelial volumétrico foram colocadas na parte externa dos frascos quatro fitas milimétricas dispostas de maneira equidistante para mensurar o crescimento diário. Para avaliar a velocidade de crescimento dos fungos nos diferentes substratos, fez-se a mensuração do crescimento micelial diariamente até a colonização total dos substratos pelos fungos. Para comparação da velocidade de crescimento (cm³/dia), os dados foram coletados no 11^o dia, quando um dos fungos atingiu o fundo do frasco. As médias do crescimento micelial volumétrico foram obtidas através do cálculo de volume cilíndrico do meio sólido colonizado ($\pi \times r^2 \times H$) e a velocidade média foi avaliada pela razão entre o volume médio do crescimento e o tempo gasto para que ocorresse tal crescimento (Gonçalves, 2002). Os dados foram submetidos à análise de variância pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância e a comparação de parâmetros do modelo de regressão polinomial. Outra análise realizada foi a de vigor micelial dos fungos nos diferentes substratos testados. Para tal utilizou-se uma escala subjetiva para a interpretação dos resultados: *= fraco, **= regular, ***= bom, ****= intenso. Depois de completado o crescimento micelial, os vidros seguiram o teste de cultivo experimental. Foram aplicados choques de indução do tipo térmico e/ou hídrico nos vidros e estes foram observados diariamente até o aparecimento de primórdios. Os cogumelos produzidos foram colhidos e secos.

3. Resultados e Discussão

O crescimento micelial de POS 09/100 e LED 96/13 apresentou diferenças significativas em relação aos diferentes substratos utilizados, conforme pode ser observado na Tabela 1. Para *L. edodes* (LED 96/13) a maior velocidade de crescimento micelial foi alcançada no substrato BAN CAJ FT. Dentre as combinações, em relação aos suplementos, pode-se notar que para LED 96/13 houve um crescimento mais rápido nos tratamentos suplementados com farelo de cupuaçu (FC) que continham açaí (AÇA e BAN AÇA) e um crescimento mais lento com o mesmo farelo nos tratamentos que continham cajú. Já para a linhagem POS 09/100 de *P. ostreatus* não houve diferenças significativas entre a velocidade de crescimento obtida em cada um dos substratos utilizados e todos obtiveram excelente velocidade, superando a velocidade de *L. edodes*, excerto em BAN CAJ FT, onde a velocidade de crescimento de ambos os fungos não diferiu estatisticamente entre si.

Tabela 2 - Médias de velocidade de crescimento micelial (cm³/dia) das linhagens POS 09/100 e LED 96/13 em diferentes substratos à base de resíduos regionais, após 11 dias de incubação a 25 °C.

Linhagens	Substratos							
	AÇA FT	AÇA FC	BAN AÇA FT	BAN AÇA FC	BAN CAJ FT	BAN CAJ FC	CAJ FT	CAJ FC
LED 96/13	9,20 Bbc	12,09 Babc	11,41 Babc	16,89 Bab	19,98 Aa	16,03 Bab	13,35 Babc	6,54 Bc
POS 09/100	20,79 Aa	20,87 Aa	22,82 Aa	27,23 Aa	23,91 Aa	25,57 Aa	24,76 Aa	24,97 Aa

AÇA= açaí, BAN AÇA= banana com açaí, BAN CAJ= banana com cajú, CAJ= cajú. Suplementos (FT= farelo de trigo, FC= farelo de cupuaçu).

Médias seguida de letras iguais, minúscula em cada linha e maiúscula em cada coluna, não diferem entre si pelo teste Tukey, ao nível de 5% de significância ($p < 0,05$).

Com relação ao desenvolvimento micelial, a linhagem LED 96/13 apresentou vigor micelial intenso nos substratos compostos pelas misturas com banana (BAN AÇA e BAN CAJ), independente da suplementação. AÇA FC também apresentou vigor micelial intenso. Os tratamentos compostos por cajuí (CAJ FT e CAJ FC) obtiveram os menores vigores miceliais, sendo considerados regulares. Já para POS 09/100, não foi observado vigor intenso em nenhum dos tratamentos testados, obtendo em sua maioria vigor micelial bom, exceto para BAN CAJ FC e CAJ FC, sugerindo preferência pelas mesmas combinações com o farelo de trigo (FT). Marino *et al* (2008), testando o cultivo de *P. ostreatus* observaram que os substratos que obtiveram maior vigor micelial foram também os que obtiveram maior produtividade, relação que costuma acontecer. Porém não ocorreu nesse experimento, já que os substratos que apresentaram o menor vigor micelial para LED 96/13 (CAJ FT e CAJ FC) foram alguns dos que mais produziram cogumelos e alguns substratos que apresentaram excelentes vigores miceliais como AÇA FC nem mesmo produziram cogumelos. Possivelmente neste caso esteja havendo o excesso de nitrogênio.

Tabela 3 - Escala subjetiva de vigor micelial de *L. edodes* (LED 96/13) e de *P. ostreatus* (POS 09/100) em diferentes substratos à base de resíduos regionais.

Tratamentos	Vigor/ Substrato	
	LED 96/13	POS 09/100
AÇA FT	***	***
AÇA FC	****	***
BAN + AÇA FT	****	***
BAN + AÇA FC	****	***
BAN + CAJ FT	****	***
BAN + CAJ FC	****	**
CAJ FT	**	***
CAJ FC	**	**

AÇA= açaí, BAN AÇA= banana com açaí, BAN CAJ= banana com cajuí, CAJ= cajuí. Suplementos (FT= farelo de trigo, FC= farelo de cupuaçu). Classificação do vigor: *=fraco, **=regular, ***=bom, ****=intenso.

Os resultados de regressão polinomial ilustrados na figura 1 mostram variação na velocidade de crescimento volumétrico instantâneo (cm^3/dia) das linhagens POS 09/100 e LED 96/13 nos diferentes tratamentos, indicando picos diferentes em cada dia de incubação. O crescimento micelial nos tratamentos só iniciou-se a partir do 3º dia de incubação e, ao longo dos dias houve uma oscilação na velocidade do crescimento. Ao analisar POS 09/100, as curvas de regressão mostram crescimento homogêneo em todos os tratamentos, que se mantiveram em velocidade constante. Na análise de LED 96/13, houve velocidade de crescimento heterogênea entre os tratamentos. Pôde-se observar que a maior velocidade foi alcançada no tratamento BAN CAJ FT, em velocidade constantemente crescente. Outro tratamento que se destacou foi o BAN CAJ FC, que manteve uma média praticamente constante até o 6º dia e depois apresentou um pico de velocidade de crescimento. Um tratamento que apresentou um pico de velocidade bastante elevado de um dia para o outro foi o AÇA FC, que teve um crescimento acelerado nos dois últimos dias de incubação. A velocidade de crescimento micelial pode ser alterada à medida que o fungo se aprofunda no substrato (Rossi *et al*, 2001).

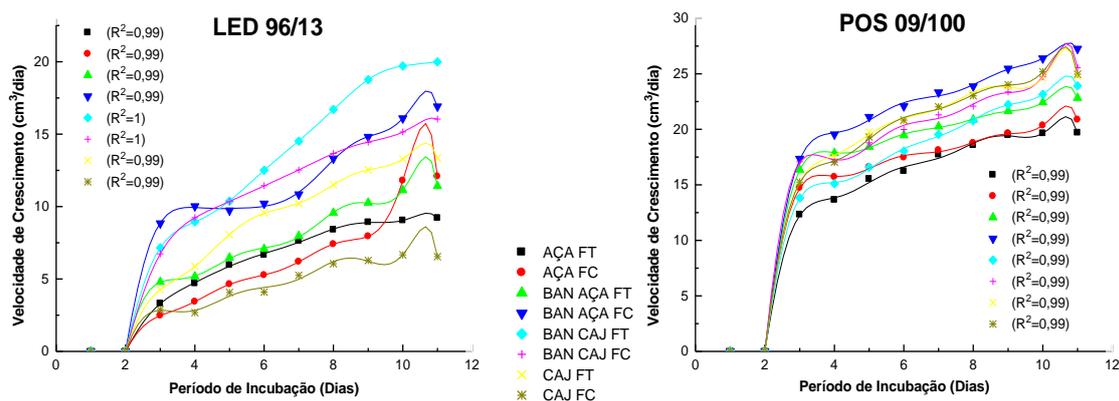


Figura 1 – Velocidade de crescimento volumétrico instantâneo (cm^3/dia) de *Pleurotus ostreatus* (POS 09/100) e *Lentinula edodes* (LED 96/13) em diferentes substratos.

Na análise de perda de matéria orgânica (PMO%) durante o crescimento micelial de POS 09/100 e LED 96/13, observou-se que nos tratamentos que continham açaí (AÇA FT e FC, BAN-AÇA FT e FC) a linhagem LED 96/13 obteve a maior perda e nos tratamentos que continham cajú (CAJ FT e FC, BAN-CAJ FT e FC) a linhagem POS 09/100 foi a que obteve maior perda, como pode ser observado na figura 2. No trabalho de Sales-Campos (2008), a PMO também variou com o tipo de substrato utilizado e não esteve diretamente relacionada com a produtividade e o tratamento que obteve a maior eficiência biológica e produtividade para *P. ostreatus*, que foi o de estipe da pupunheira, não foi o que obteve maior PMO. Ou seja, o substrato onde houve maior degradação da matéria orgânica não foi necessariamente o que produziu mais cogumelos. Para LED 96/13, os substratos que obtiveram maior perda de matéria orgânica foram BAN-AÇA FC e BAN-AÇA FT, substratos que nem mesmo produziram cogumelos na fase de cultivo experimental. A perda de matéria orgânica do substrato demonstra o uso de carboidratos pelos fungos, mas não é necessariamente uma evidência de seu crescimento (Boyle, 1998).

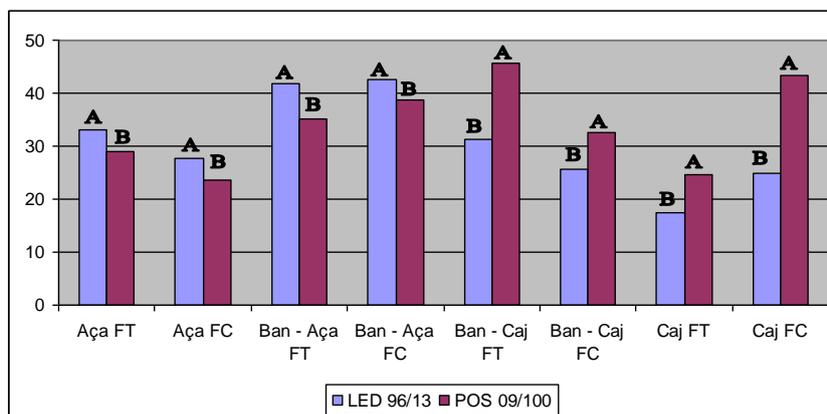


Figura 2 – Perda de Matéria Orgânica (%) obtida com *Pleurotus ostreatus* (POS 09/100) e *Lentinula edodes* (LED 96/13) em resíduos lignocelulósicos regionais*.

AÇA= açaí, BAN AÇA= banana com açaí, BAN CAJ= banana com cajú, CAJ= cajú. Suplementos (FT= farelo de trigo, FC= farelo de cupuaçu).

*Médias de comparação dos tratamentos em cada linhagem com letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância.

Na fase de cultivo experimental, cerca de 15 dias após os choques térmico e hídrico houve o surgimento de primeiros primórdios da linhagem LED 96/13 em três vidros que foram submetidos aos dois tipos de choques. Dez dias depois foi feita a colheita dos primeiros

cogumelos, do tratamento BAN CAJ FC, seguido pelo tratamento BAN CAJ FT, alguns dias após. Os cogumelos de BAN CAJ FT se desenvolveram antes, porém, devido ao teste estar sendo realizado em vidro, estes ficaram presos e somente com o surgimento de novos cogumelos foi possível a sua coleta. Após alguns dias surgiram cogumelos em outro vidro do tratamento BAN CAJ FT e vários no tratamento CAJ FT. Durante o decorrer do cultivo experimental surgiram mais cogumelos dos tratamentos CAJ FT e FC, além de BAN CAJ FT e FC, porém com maior surgimento de primórdios e produção de cogumelos nos tratamentos CAJ FT e FC, demonstrando certa preferência do *L. edodes* pelo resíduo madeireiro. Esse fungo é uma espécie de hábito essencialmente lignícola (Gomes-da-Costa *et al*, 2008). A lignina é o terceiro componente fundamental em importância da madeira, ocorrendo entre 15 e 35% de seu peso. A lignina confere resistência à madeira e é um dos componentes da madeira que os fungos de podridão branca como *L. edodes* conseguem degradar para sua nutrição, através de sua atividade enzimática (Klock, 2005). Sales-Campos e Andrade (2011) obtiveram a maior eficiência biológica e rendimento no cultivo de *Lentinus strigosus* no substrato a base de serragem de cajuí.

Somente cerca de dois meses após o início do surgimento dos primórdios e do início da produção da linhagem LED 96/13 começaram a surgir primórdios da linhagem POS 09/100 de *P. ostreatus* nos diferentes substratos, incluindo aqueles formulados com açaí, que nada produziram com a linhagem LED 96/13.

4. Conclusão

Os substratos formulados com a serragem de cajuí apresentaram maior viabilidade para o cultivo de *Lentinula edodes*, independente da suplementação utilizada.

O substrato que obteve maior PMO não foi o que obteve maior produção de cogumelos no cultivo experimental.

O desenvolvimento micelial mais vigoroso de alguns tratamentos não teve relação com a produção de cogumelos.

5. Referências

Boyle, D. 1998. Nutritional factors limiting the growth of *Lentinula edodes* and other white-rot fungi in wood. *Soil Biology and Biochemistry*, 30: 817-823.

Eira, A.F. 2000. Cultivo de cogumelos (compostagem, condução e ambiente). *In: Anais - III Reunião Itinerante de Fitossanidade do Instituto Biológico*. Mogi das Cruzes, São Paulo. p. 83-95.

Gonçalves, C.R. 2002. *Efeito da fragmentação do micélio visando a obtenção de inoculantes em suspensão para cultivo de Shiitake*. Tese de Doutorado, Universidade Estado Paulista Júlio de Mesquita Filho, Araraquara, São Paulo. 120pp.

Gomes-da-Costa, S.M.; Coimbra, L.B.; Silva, E.S. 2008. Crescimento micelial de dois isolados de *Lentinula edodes* (Berk.) Pegler, em resíduos ligninocelulósicos. *Acta Sci. Biol. Sci.* Maringá, v. 30, n. 2, p. 192-196.

Klock, U.; Muñiz, G.I.B.; Hernandez, J.A. Andrade, A.S. 2005. *Química da Madeira*. UFPR. 3ª edição revisada.

Marino, R.H.; Abreu, L.D.; Mesquita, J.B.; Ribeiro, G.T. 2008. Crescimento e cultivo de diferentes isolados de *Pleurotus ostreatus* (Jacq.: FR.) Kummer em serragem de casca de coco. *Arq. Inst. Biol.*, São Paulo, v.75, n.1, p.29-36.

Rossi, I.H.; Monteiro, A.C.; Machado, J.O. 2001. Desenvolvimento micelial de *Lentinula edodes* como efeito da profundidade e suplementação do substrato. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.36, n.6, p.887-891.

Sales-Campos, C. 2008. *Aproveitamento de Resíduos Madeireiros e da Agroindústria Regional para o cultivo de Cogumelos Comestíveis de Ocorrência na região Amazônica*. Tese de Doutorado, Universidade Federal do Amazonas/Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus, Amazonas. 197 pp.

Sales-Campos, C. Andrade, M.C.N. 2011. Aproveitamento de resíduos madeireiros para o cultivo do cogumelo comestível *Lentinus strigosus* de ocorrência na Amazônia. *Acta Amazonica*. 41(1) 2011: 1-8.