

RESÍDUOS REGIONAIS NA ELABORAÇÃO DE MEIOS PARA CRESCIMENTO MICELIAL DE COGUMELOS AMAZÔNICOS

Jéssica Caroline do Nascimento TAVARES¹; Ruby VARGAS-ISLA²; Alessandra Martins Meira ARAÚJO³; Raquel Sousa CHAVES⁴; Noemia Kazue ISHIKAWA⁵

¹Bolsista PAIC/FAPEAM-INPA; ²Colaboradora CBIO/INPA; ³Colaboradora/Mestranda INPA/CAPES;

⁴Colaboradora PIBIC/CNPq; ⁵Orientadora CBIO/INPA

1. Introdução

Cogumelos são fungos pertencentes às classes dos Ascomycetes e Basidiomycetes. Estes micro-organismos são ricos em proteínas e possuem grande importância medicinal e alimentícia. Segundo Miyaji *et al.* (2001), os cogumelos foram um dos primeiros alimentos colhidos pelos povos pré-históricos. Os egípcios cultivavam para servi-los de iguarias como alimento principal aos faraós, romanos e gregos em suas famosas festas (Monteiro 2005). Os micro-organismos eram cultivados em meios líquidos até cerca de 1880, quando Robert Kock e sua equipe introduziram os meios de cultura sólidos, que permitiram o estudo de espécies isoladas (culturas puras), separando-as de espécies contaminantes. Meio de cultura é denominado o material nutriente preparado no laboratório para o crescimento de micro-organismos (Tortora *et al.* 2000). Existem cerca de 100 espécies de fungos que podem ser cultivados (Boa 2004). A produção de cogumelos é uma arte e uma ciência com várias etapas complexas e distintas, que envolvem fases diversas, tais como a obtenção do micélio puro, preparo do substrato, inoculação, incubação e as condições de produção (Beyer 2003), havendo especificações de cultivo para cada fungo. Após o isolamento da cultura micelial de um cogumelo comestível a próxima etapa consiste na multiplicação das culturas em meio sólido, estas servirão para sua manutenção, utilização em diferentes experimentos laboratoriais e também para o preparo da semente-inóculo que será utilizada na produção de cogumelos. O meio de cultura mais utilizado nos laboratórios é o meio Batata Dextrose Ágar (BDA). No entanto, dado a diversidade de outros tubérculos e frutas disponíveis na região, este trabalho teve como objetivo substituir a batata (*Solanum tuberosum* L.) por outros ingredientes disponíveis nas feiras livres de Manaus.

2. Material e Métodos

Obtenção dos micro-organismos

Inicialmente foi retirado um fragmento de meio de cultura com micélio dos fungos *Panus strigellus* (Berk.) Overh., *Oudemansiella* sp., *Pleurotus* sp. e *Lentinula raphanica* (Murrill) Mata & R.H. Petersen provenientes da cultura estoque do Laboratório de Microbiologia de Alimentos do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia – INPA e transferidos para uma placa de Petri (90mm de diâmetro) contendo meio Batata Dextrose Ágar (BDA). Após o crescimento da colônia, fragmentos de (2x2mm) foram retirados da borda da colônia para serem utilizados como inóculo dos experimentos.

Preparo dos Meios de Cultura

Os meios foram preparados segundo a metodologia usada para o preparo de meio BDA, diferenciando apenas na substituição da batata por outro ingrediente, neste caso a abóbora (*Cucurbita* sp), a macaxeira (*Manihot esculenta* Crantz) e a batata-doce (*Ipomoea batatas* L.). A batata ou o ingrediente substituto foram descascados e cortados em finas fatias, e cozidos em água destilada até a água começar a ferver. Logo em seguida filtrado e o líquido obtido misturado em frascos Erlenmeyer com 20g de dextrose, 15g de ágar. Após homogeneização, os meios foram esterilizados em autoclave durante 15 minutos, a 121 °C. O meio estéril foi distribuído em placas de Petri. Após solidificação do meio, um inóculo foi transferido para o centro de cada placa contendo os respectivos meios de cultura. Sendo quatro meios de cultura, quatro fungos, com três repetições, no total, foram preparadas 48 placas. Os mesmos foram incubados em estufa tipo BOD (Biological Oxygen Demand) a 25 °C. O meio BDA foi considerado o controle do experimento.

Avaliação do crescimento micelial

As placas contendo os micro-organismos experimento foram mantidas a 25 °C até um dos fungos atingirem a borda da placa de Petri. Para obter a massa micelial seca, o meio de cultura foi derretido utilizando o aparelho de micro-ondas por 20 segundos. Após este procedimento a colônia foi separada do meio de cultura utilizando funil de Büchner e bomba a vácuo, o micélio foi lavado com água a ± 60 °C, e levada para estufa com circulação de ar, inicialmente a 60 °C por 24 horas, posteriormente a 105 °C até a obtenção de massa constante (Vargas-Isla *et al.* 2008).

3. Resultados e Discussão

A economia financeira e também a disponibilidade no mercado pode resultar em um meio de cultura bastante utilizado, porém isso não significa que o meio será adequado para o fungo em questão. Nas feiras livres de Manaus a disponibilidade e variação de preços de outros possíveis ingredientes substitutos

da batata são grandes. Levando em consideração os preços (tabela 1) da batata e dos outros ingredientes, é possível obter outro tipo de meio de cultura mais barato economicamente que o BDA.

Tabela 1. Tabela de custos. Itens comprados nas feiras livres de Manaus.
*200 g utilizada para fazer 1 L de meio de cultura.

Itens	Preço (R\$) /Kg	Preço (R\$)200 g*
Abóbora	R\$ 8,00	R\$ 1,60
Batata-doce	R\$ 8,00	R\$ 1,60
Batata-inglesa	R\$ 7,00	R\$ 1,40
Macaxeira	R\$ 3,00	R\$ 0,60

Com base na análise estatística, o crescimento micelial de *Panus strigellus* foi o mesmo em todos os meios de cultura, porém a biomassa foi maior no meio de ADA (Fig. 1, 2A e 3).

Oudemansiella sp., teve o mesmo crescimento em todos os meios de cultura, mas a sua massa foi maior no meio de cultura controle BDA (Fig. 1, 2B e 3).

Pleurotus sp., cresceu melhor nos meios de BDA e BDDA, tendo também uma massa melhor nesses dois meios (Fig. 1, 2C e 3).

Lentinula raphanica, obteve melhor crescimento no meio de cultura BDDA e massa maior também em BDDA (Fig. 1, 2D e 3).

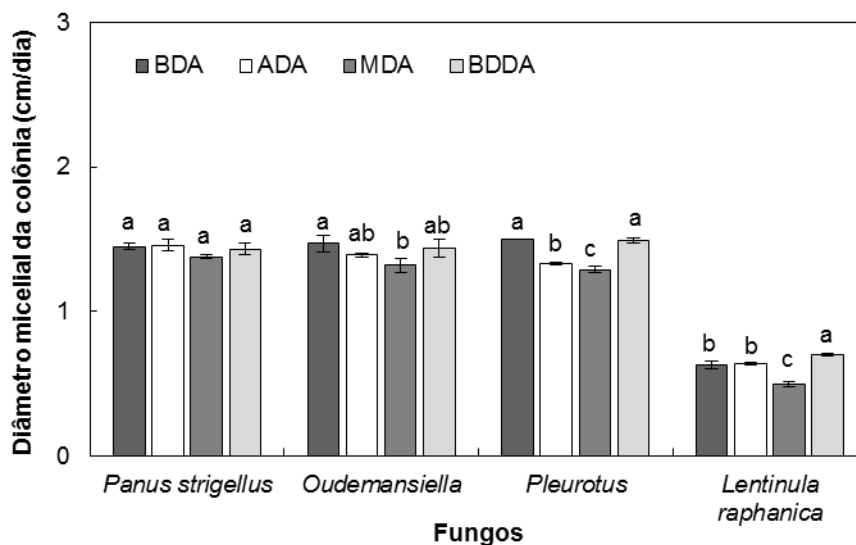


Fig. 1. Crescimento micelial da colônia em meios de cultura, Batata Dextrose Ágar (BDA); Abóbora Dextrose Ágar (ADA); Macaxeira Dextrose Ágar (MDA); Batata-doce Dextrose Ágar (BDDA), mantidos a 25 °C. Barras = desvio padrão. Colunas = crescimento micelial. Média de três repetições com letras diferentes diferem significativamente pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

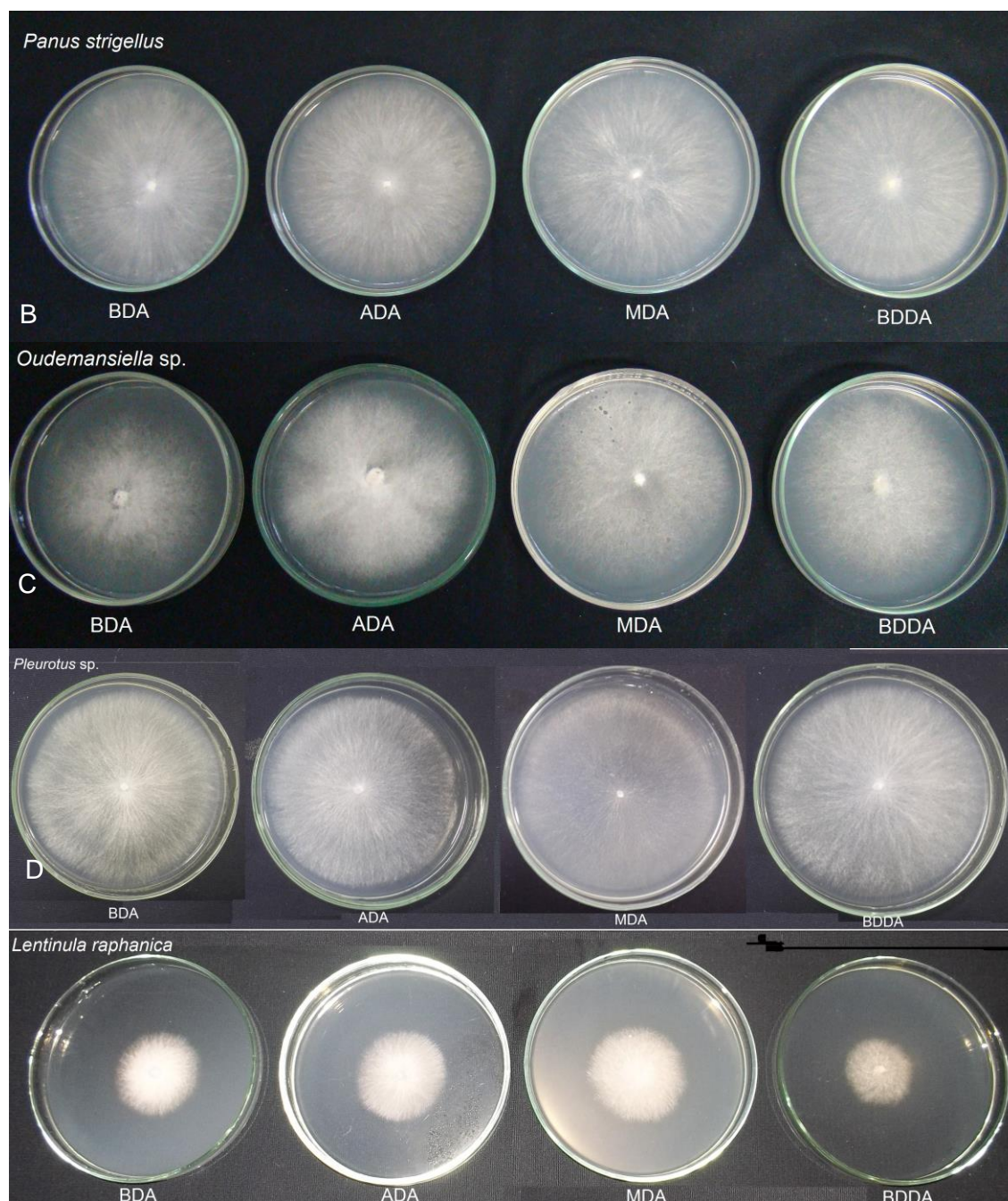


Fig. 2. Crescimento colonial dos fungos *Panus strigellus*, *Oudemansiella sp.*, *Pleurotus sp.*, e *Lentinula raphanica* em placa de Petri mantidos em estufa BOD (Biological Oxygen Demand) a 25 °C.

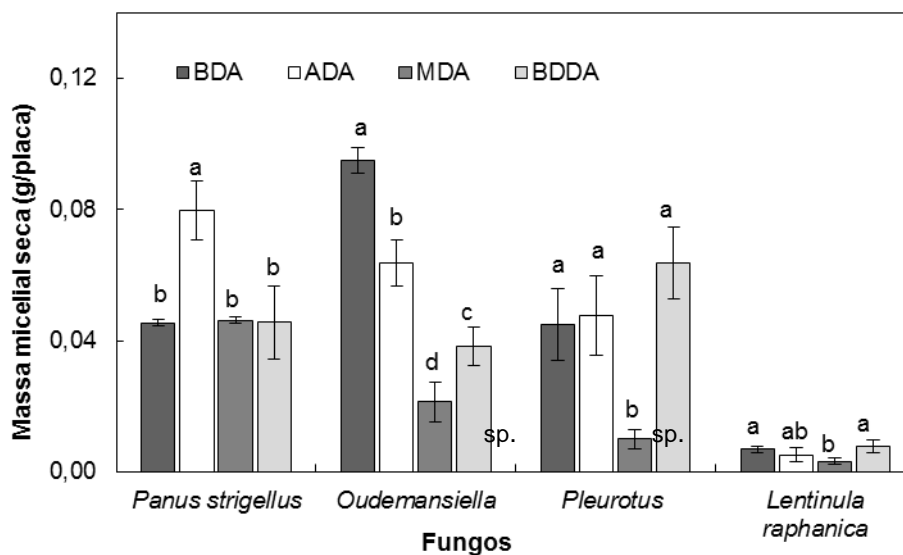


Fig. 3. Massa micelial seca em diferentes meios de cultura, Batata Dextrose Ágar (BDA); Abóbora Dextrose Ágar (ADA); Macaxeira Dextrose Ágar (MDA); Batata-doce Dextrose Ágar (BDDA). Barras = desvio padrão. Colunas = massa micelial. Média de três repetições com letras diferentes diferem significativamente pelo teste de Tukey ($p < 0,01$).

4. Conclusão

A batata usada no meio de cultura Batata Dextrose Ágar pode ser substituída por outros ingredientes tanto disponíveis nas feiras livres de Manaus.

5. Referências Bibliográficas

- Beyer, D.M.; Pecchia, J.; Bertsch, P.L. 2003. *Basic Procedures For Agaricus Mushroom Growing*.
 Boa, E. 2004. Wild edible fungi. A global overview of their use and importance to people. FAO, Rome.
 Miyaji, C.K.; Kaori, C.; Colus, I.; Syllós, M. 2001. Shiitake, um cogumelo mutagênico ou antimutagênico. *Semina: Ci. Biol. Saúde*, 22: 11-17.
 Monteiro, C.S.; Kalluf, V.; Penteadó, P.T.; Waszczyński, N.; Freitas, R.; Stertz, S. C. 2005. Caracterização química do cogumelo *Agaricus blazei* Murril. *Visão Acadêmica*, Curitiba.
 Tortora, G. J.; Funke B.R.; Case C.L. 2000. *Microbiologia*. 6ta ed. Artes Médicas Sul, Porto Alegre, 2000, 827 p.
 Vargas-Isla, R.; Ishikawa, N.K. 2008. Optimal conditions of in vitro mycelial growth of *Lentinus strigosus*, an edible mushroom isolated in the Brazilian Amazon. *The Mycological Society of Japan and Springer. Mycoscience*, 49: 215–219.