

Resíduos de bananeira como substrato base para o cultivo *in vitro* de *Coprinus comatus*

Banana tree residues as base substrate for the *in vitro* cultivation of *Coprinus comatus*

Laís Bentes de Almeida^{1(*)}

Ceci Sales-Campos²

Cristiane Suely Melo de Carvalho³

Marli Teixeira de Almeida Minhoni⁴

Meire Cristina Nogueira de Andrade⁵

Resumo

O *Coprinus comatus* é um fungo lignícola e comestível que tem demonstrado grande potencial para sua exploração comercial, por se desenvolver facilmente nos mais diferentes resíduos, entre eles a folha de bananeira. Assim, avaliou-se o crescimento micelial de *Coprinus comatus* em meios de cultura à base de folhas das diferentes cultivares de bananeira: Thap-Maeo, Prata-Anã Pelipita e Caipira, com 20% de suplementação com farelo de trigo, soja e arroz. Em câmara de fluxo laminar, discos de 7 mm de diâmetro, da linhagem CCO 01/01 de *C. comatus*, foram inoculados no centro das placas de Petri contendo meio de cultura. Em seguida, as placas foram dispostas inteiramente ao acaso em incubadora a 25 °C. Após 24 horas, iniciaram-se as medições diárias do crescimento micelial, até que

1 Engenheira Agrônoma; Mestranda em Agricultura no Trópico Úmido no Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, INPA; Endereço: Avenida André Araújo, 2936, Caixa Postal: 478, CEP: 69011-970, Manaus, Amazonas, Brasil; E-mail: lais.bentes@hotmail.com (*) Autora para correspondência.

2 Dra.;Tecnóloga Florestal; Pesquisadora do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, INPA, Coordenação de Tecnologia e Inovação; Endereço: Avenida André Araújo, 2936, Caixa Postal: 478, CEP: 69011-970, Manaus, Amazonas, Brasil; E-mail: ceci@inpa.gov.br

3 MSc.; Bióloga; Doutoranda em Biotecnologia na Universidade Federal do Amazonas, UFAM; Endereço: Avenida André Araújo, 2936, Caixa Postal: 478, CEP: 69011-970, Manaus, Amazonas, Brasil; E-mail: cristianesm@yahoo.com.br

4 Dra; Bióloga; Professora da Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista, UNESP; Endereço: Rua Jose Barbosa de Barros, 1780, Lageado, Caixa Postal: 237, CEP: 18610-307, Botucatu, São Paulo, Brasil; E-mail: marliminhoni@fca.unesp.br

5 Dra; Bióloga; Professora do Centro de Ciências Exatas e Sociais Aplicadas, Universidade do Sagrado Coração, USC; Endereço: Rua Irmã Arminda, 10-50, Bairro Jardim Brasil, CEP: 17011-160, Bauru, São Paulo, Brasil/ E-mail: mcnandrade@hotmail.com

Recebido para publicação em 28/06/2012 e aceito em 26/06/2013

um dos tratamentos atingisse as bordas da placa de Petri. De acordo com os resultados obtidos, verificou-se que: para os meios de cultura à base das cultivares de bananeira Thap-Maeo, Prata-Anã e Pelipita não houve efeito do tipo de suplementação; para o meio à base da cultivar Caipira os farelos de trigo e arroz proporcionaram as melhores médias de crescimento. Assim, os resíduos de bananeira podem ser uma alternativa viável e ecologicamente correta no cultivo de *C. comatus*, especialmente as variedades Thap-Maeo e Prata-Anã que, independente da suplementação utilizada, proporcionaram as melhores médias de crescimento.

Palavras-chave: cogumelos; resíduos; micélio.

Abstract

Coprinus comatus is an edible and lignolytic fungus which has presented great potential for commercial use due to its easy development in the different residues, such as banana tree leaf. Thus, the mycelial growth of *Coprinus comatus* in culture media based on leaves of Thap-Maeo, Prata-Anã, Pelipita and Caipira banana tree cultivars, supplemented with 20% of wheat, soy and rice brans, was evaluated. 7 mm-wide discs of CCO 01/01 strain of *C. comatus* were inoculated in the middle of Petri dishes containing culture medium, inside a laminar flow chamber. Next, the dishes were arranged totally at random inside an incubator at 25 °C. The daily measurements of the mycelial growth began after 24 hours, until one of the treatments reached the borders of the Petri dish. According to the results obtained, we verified that there was not effect of the kind of supplementation for culture media based on Thap-Maeo, Prata-Anã and Pelipita; the best growth averages for culture media based on Caipira were provided by wheat and rice brans. Therefore, banana residues may be a viable and ecologically correct choice for the cultivation of *C. comatus*, especially for Thap-Maeo and Prata Anã sorts, which provided the best growth averages, regardless of the supplementation used.

Key words: mushrooms; residues; mycelium.

Introdução

Nos últimos anos, o cultivo de cogumelos comestíveis vem ganhando maior relevância no Brasil, principalmente por possibilitar o aproveitamento de resíduos lignocelulósicos comumente desperdiçados, reduzindo assim a quantidade de lixo orgânico na natureza, além de reduzir os custos de produção (CAVALCANTE et al., 2008; SALES-CAMPOS et al., 2010; ZIED et al., 2009).

Uma série de resíduos da agricultura como palhas de trigos, de arroz, gramíneas, serragens, polpa e casca de frutas, folhas de bananeira, polpa de café, bagaço de cana-de-açúcar entre outros podem ser utilizados para produção de cogumelos comestíveis, como uma alternativa sustentável e economicamente rentável para a reciclagem do lixo orgânico (ANDRADE et al., 2008a; CARVALHO et al., 2011; SALES-CAMPOS; ANDRADE, 2011). O Brasil é o quinto maior produtor mundial de banana, com aproximadamente 6,8 milhões toneladas com área cultivada de mais de 479 mil hectares (FAO, 2011). A quantidade de resíduos gerados a partir da cultura da banana é abundante, com um valor estimado de 30% de perdas pós-colheita, sem considerar os resíduos gerados a partir do pseudocaule, engaço, palha e folhas (CARVALHO et al., 2011). Esses resíduos são considerados os mais importantes em termos de volume gerado e potencial fibroso, sendo apontados como um ambiente propício ao desenvolvimento fúngico devido à grande quantidade de fibras lignocelulolíticas presentes (SOFFNER, 2001).

A seleção do material utilizado na produção, bem como a escolha da linhagem mais adequada para o clima da região produtora são fundamentais, tendo em vista que a rápida miceliação do fungo dependente da fonte

nutricional e do composto utilizado diminuem os riscos de contaminação por outros fungos ou bactérias que possam a vir a comprometer a produção (ROSSI et al., 2001).

Além da necessidade de um ótimo substrato, a escolha de uma fonte de nutriente como suplemento também é fundamental, sendo comumente utilizados farelos, tendo destaque aqueles à base de cereais como fonte de nitrogênio orgânico, o qual pode interferir na produtividade e na eficiência biológica, durante os estágios de desenvolvimento micelial (EIRA, 2004; MARINO et al., 2008).

Do gênero *Coprinus* e pertencente à família Agaricaceae, *Coprinus comatus* não está entre os cogumelos comestíveis mais consumidos e cultivados no mundo. Por ser um fungo lignícola, apto a utilizar lignina, celulose e hemicelulose como fonte de carbono e nutrientes, *C. comatus* proveniente de áreas de relvados e estradas de cascalho pode ser cultivado em uma grande variedade de resíduos agrícolas, demonstrando sua rusticidade e grande potencial para sua exploração comercial, se adaptando às condições ambientais da região Amazônica (FAIR LIFE, 2009).

Assim, considerando a ampla possibilidade de utilização dos resíduos produzidos na própria região para o cultivo de cogumelos comestíveis, nota-se uma necessidade de se expandir os conhecimentos no que diz respeito a novas técnicas de cultivo de cogumelos, aliado com o intuito de solucionar o problema do lixo orgânico através da reciclagem de resíduos agrícolas e agroindustriais.

Este trabalho teve como objetivo avaliar o crescimento micelial de *C. comatus* em meios de cultura à base de folha de diferentes cultivares de bananeira suplementado com farelos de cereais.

Material e Métodos

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial 4 x 3, correspondente a quatro variedades de bananeira, sendo elas: Thap-Maeo, Prata-Anã, Pelipita, Caipira e três tipos de farelos: arroz, trigo e soja. No total foram doze tratamentos com cinco repetições, sendo cada repetição correspondente a uma placa de Petri, totalizando sessenta placas.

Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey (5%) (SNEDECOR; COCHRAN, 1972). Já para as médias de regressão, foi utilizado o programa MicroCal™ Origin® (versão 3.0).

A linhagem utilizada nesta pesquisa foi a CCO 01/01 procedente da Micoteca do Módulo de Cogumelos da Faculdade de Ciências Agrônômicas/UNESP, Botucatu (SP). Tal linhagem encontra-se conservada, em óleo mineral estéril, no Laboratório de Cultivo de Fungos Comestíveis, CPPF/INPA.

As folhas das cultivares de bananeiras pertencentes ao gênero *Musa* spp. das variedades Thap-Maeo, Prata-anã, Caipira e Pelipita foram obtidas na Unidade Experimental da Embrapa Amazônia Ocidental, Rodovia AM-10, km 29.

Os farelos utilizados na suplementação dos meios de cultura foram obtidos no comércio local de Manaus (AM).

Após a coleta das folhas de bananeira, estas foram secas ao sol e posteriormente conservadas em sacos plásticos identificados, em ambiente protegido e com ar condicionado, o que evitou a reidratação das mesmas até o momento do processamento.

O processamento das folhas de bananeira foi feito em triturador (DPM-

4, 3300rpm) para a obtenção de serragem. Posteriormente, a serragem foi armazenada em frascos de vidro tipo conserva (800 mL), previamente identificados.

O meio de cultura utilizado na avaliação do crescimento micelial da linhagem de *C. comatus* foi o SA (substrato - ágar), conforme a metodologia proposta por Andrade et al. (2008b).

Os substratos foram preparados à base das folhas das cultivares de bananeira, suplementados com 20% dos diferentes farelos (soja, trigo e arroz). A mistura de todos os ingredientes foi feita manualmente, em um recipiente previamente limpo. Em seguida, foi feita a umidificação do substrato com água destilada até a obtenção de 60% de umidade. Os substratos resultantes dessas misturas foram dispostos em frascos de vidro (800 mL) com tampa, e autoclavados a 121 °C durante trinta minutos.

No preparo do meio de cultura, foram pesados 20 g de cada substrato, sendo submetido à fervura em 250 mL de água destilada, durante 15 minutos. Em seguida, foi filtrado em peneira comum (uso doméstico) de malha fina, com adicional de uma manta de algodão. Posteriormente, os extratos obtidos por meio da filtração foram dispostos em frascos Duran (capacidade de 250 mL), completando-se o volume para 250 mL, sendo submetidos ao processo de autoclavagem durante 30 minutos.

Após, foi feito a adição de 7 g de ágar, autoclavou-se novamente a 121 °C por mais 30 minutos, seguido de resfriamento do meio de cultura até aproximadamente 45-50 °C. Assim preparados, os meios foram vertidos em placas de Petri previamente esterilizadas em câmara de fluxo laminar.

Após o resfriamento dos meios de cultura, discos de 7 mm de diâmetro de

matriz secundária da linhagem do *C. comatus* foram inoculados nos meios de cultura previamente preparados. As placas foram distribuídas inteiramente ao acaso e mantidas em estufa incubadora a 25 °C. Nesse período, a cada 24 horas, com auxílio de uma régua graduada em milímetros, foram realizadas medições do crescimento radial do micélio na superfície do meio de cultura através de quatro medições equidistantes entre si, até que em um dos tratamentos o micélio do *C. comatus* atingisse a proximidade das bordas da placa de Petri.

Resultados e Discussão

Analisando o crescimento do *C. comatus* dentro de cada cultivar de bananeira, verificou-se que as cultivares Thap-Maeo,

Prata-Anã e Pelipita obtiveram resultados semelhantes de crescimento para todas as suplementações (Tabela 1). Já para a Caipira, verifica-se que os melhores crescimentos ocorreram nos substratos suplementados com farelo de trigo e arroz. Silva et al. (2005), constataram que o tipo e a concentração dos suplementos influenciam no crescimento de *Lentinula. edodes*. Esses autores verificaram que formulações com farelo de arroz e de trigo apresentaram um efeito positivo, aumentando o crescimento micelial em resíduo de eucalipto. Donini et al. (2006), avaliando a velocidade média de crescimento da linhagem ABL 97/11 de *Agaricus brasiliensis*, verificaram que o farelo de trigo, na concentração de 20%, proporcionou as melhores médias de crescimento micelial se comparado aos farelos de soja, arroz e milho.

Tabela 1 - Médias de crescimento micelial da linhagem CCO 01/01 de *Coprinus comatus*, quando cultivado em presença de diferentes cultivares de bananeira: Thap-Maeo, Prata-Anã, Pelipita e Caipira, suplementadas a 20% com farelo de soja, trigo e arroz, após 10 dias de incubação, a 25 °C

Cultivares de bananeira	Suplementação com farelos (20%)		
	Soja	Trigo	Arroz
Thap-Maeo	61,7 Aa	66,2 Aa	60,3 Aa
Prata-Anã	61,0 Aa	66,1 Aa	66,7 Aa
Pelipita	59,8 ABa	59,8 Ba	59,0 Ba
Caipira	54,0 Bb	69,5 Aa	59,6 Aa

Fonte: Autores (2013).

Nota: Médias seguidas de letras iguais, maiúscula em cada coluna e minúscula em cada linha, não diferem entre si pelo teste Tukey (5%). CV(%) = 7,14.

Com relação ao crescimento micelial do meio suplementado com farelo de soja, as cultivares Thap-Maeo e Prata-Anã tiveram os melhores resultados quando cultivados nesse substrato, os quais estatisticamente

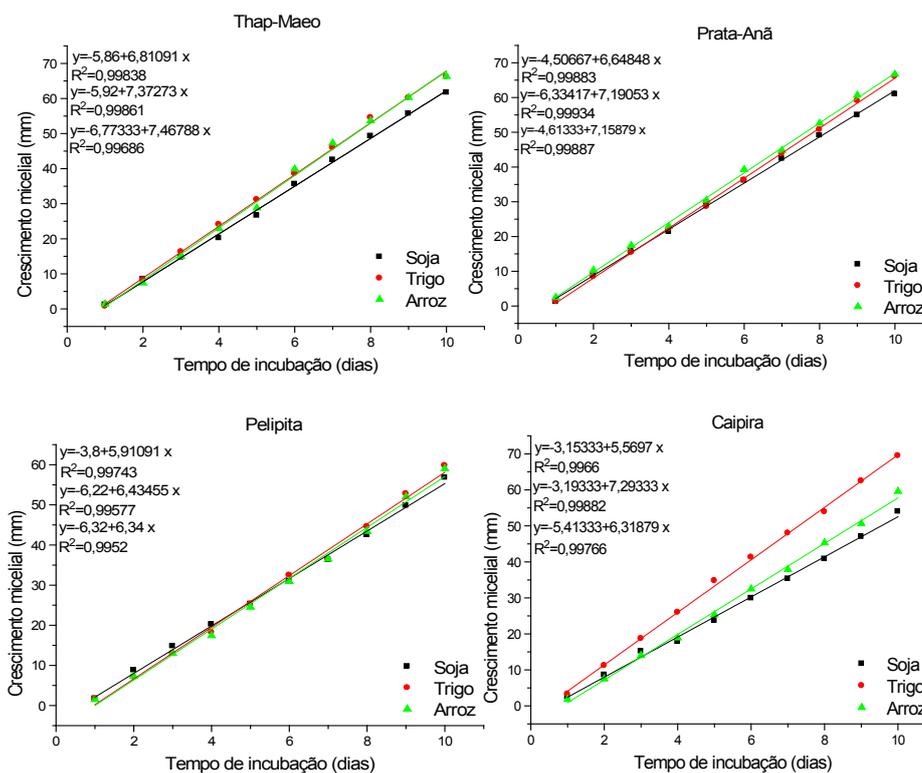
não diferiram da cultivar Pelipita. Dentre os meios adicionados com farelo de trigo, verificou-se que nas cultivares Thap-Maeo, Prata Anã e Caipira proporcionaram as melhores médias de crescimento micelial.

Analisando O crescimento do *C. comatus*, no meio suplementado com farelo de arroz, as cultivares Caipira, Thap-Maeo e Prata-Anã apresentaram as melhores médias de crescimento.

Na figura 1 para a cultivar Thap-Maeo, nota-se uma tendência de maiores valores médias de crescimento micelial nos meios de cultura suplementados com farelos de trigo e arroz, ao longo de todo o período de incubação. Para a cultivar Caipira, o

meio suplementado com farelo de trigo apresentou melhor desempenho ao longo do período de desenvolvimento fúngico avaliado. Na cultivar Pelipita, observou-se valores semelhantes de crescimento em todas as suplementações com os diferentes farelos testados. Finalmente, para a cultivar Prata-Anã, o meio suplementado com farelo de arroz apresentou uma tendência de maiores valores de crescimento fúngico que as demais, ao longo do período de incubação.

Figura 1 - Crescimento micelial (mm) de *C. comatus* em meios de cultura a base de folha de bananeira suplementado a 20% com farelos de trigo, soja e arroz



Legenda: ■ Soja ● Trigo ▲ Arroz a 25 °C.

Fonte: Autores (2013).

Segundo Sales-Campos e Andrade (2010) e Gomes-Da-Costa et al. (2008), o tipo de substrato e a suplementação podem influenciar na velocidade do crescimento micelial. Maziero et al. (1990) e Ragunathan et al. (1996) também citaram que a velocidade de crescimento e o vigor são parâmetros que podem ser influenciados pela composição do substrato, pelos isolados testados e pela suplementação fornecida. Nyochembeng et al. (2008), avaliando o crescimento micelial de *L. edodes* em resíduos da colheita de tomate, feijão-soja, feijão-caupi, manjeriço, batata doce e palhas de arroz e de trigo, observaram que os substratos à base de palhas

apresentaram médias significativamente maiores em relação as demais formulações utilizadas.

Conclusão

A utilização de folhas de bananeiras como substrato, suplementadas com os farelos de soja, trigo e arroz, apresentou resultados satisfatórios para o cultivo *in vitro* de *C. comatus*, demonstrando ser uma alternativa bastante viável para o cultivo desse fungo, especialmente ao se empregar as variedades de bananeiras Thap-Maeo e Prata-Anã.

Referências

- ANDRADE, M. C. N.; ZIED, D. C.; MINHONI, M. T. A.; KOPYTOWSKI FILHO, J. Yield of four *Agaricus bisporus* strains in tree compost formulations and chemical composition analyses of the mushrooms. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v. 39, p. 593–598, 2008a.
- ANDRADE, M. C. N.; SILVA, J. H.; MINHONI, M. T. A.; ZIED, D. C. Mycelial growth of two *Lentinula edodes* strains in culture media prepared with sawdust extracts from seven eucalyptus species and three eucalyptus clones. **Acta Scientiarum. Agronomy**, Maringá, v. 30, n. 3, p. 333–337, 2008b.
- CARVALHO, C. S. M.; ANDRADE, M. C. N.; SALES-CAMPOS, C. Avaliação da produção e das características bromatológicas de *Pleurotus ostreatus* cultivado em resíduos de bananeira. In: SALES-CAMPOS, C.; VAREJÃO, M. J. C. (Ed.). **Bioconversão de resíduos lignocelulolíticos da Amazônia para cultivo de cogumelos comestíveis**. Manaus: INPA, 2011. p. 39–46.
- CAVALCANTE, J. L. R.; GOMES, V. F. F.; KOPYTOWSKI FILHO, J.; MINHONI, M. T. A.; ANDRADE, M. C. N. Cultivation of *Agaricus blazei* in the environmental protection area of the Baturité region under three types of casing soils. **Acta Scientiarum. Agronomy**, Maringá, v. 30, n. 4, p. 513–517, 2008.
- DONINI, L. P.; BERNARDI, E.; NASCIMENTO, J. S. Desenvolvimento *in vitro* de *Agaricus brasiliensis* em meios suplementados com diferentes farelos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 41, n. 6, p. 995–999, 2006.
- EIRA, A. F. Fungos comestíveis. In: ESPÓSITO, E.; AZEVEDO, J. L. (Ed.). **Fungos: uma introdução à biologia, bioquímica e biotecnologia**. Caxias do Sul: Educs, 2004. p. 379–448.
- FAIR LIFE. *Coprinus comatus*. 2009. Disponível em: <http://www.fairlife.org/pt/coprinus_comatus.html>. Acesso em: 25 jun. 2010.
- FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. **FAOSTAT**. 2011. Disponível em: <<http://faostat.fao.org>>. Acesso em: 10 nov. 2011.

- GOMES-DA-COSTA, S. M.; COIMBRA, L. B.; SILVA, E. S. Crescimento micelial de dois isolados de *Lentinula edodes* (Berk.). Pegler em resíduos lignocelulóticos. **Acta Scientiarum Biological Sciences**, Maringá, v. 30, n. 2, p. 192-196, 2008.
- MARINO, R. H.; ABREU, L. D.; MESQUITA, J. B.; RIBEIRO, G. T. Crescimento e cultivo de diferentes isolados de *Pleurotus ostreatus* (Jacq.: Fr.) Kummer em serragem da casca de coco. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 75, n.1, p. 29-36, 2008.
- MAZIERO, R.; BONONI, V. L.; CAPELARI, M. Cultivo e produtividade de *Pleurotus ostreatus* var. Florida em Mogi das Cruzes, Brasil. **Hoehnea**, São Paulo, v. 19, n. 1, p. 1-7, 1990.
- MICROCAL SOFTWARE INC. **Data analysis and techbical graphics software**. MicroCal™ Origin® Version 3.0. Northampton, MA: Copyright ©, 1991-1993.
- NYOCHEMBENG, L. M.; BEYL, C. A.; PACUMBABA, R. P. Optimizing edible fungal growth and biodegradation of inedible crop residues using various cropping methods. **Bioresouce Technology**, Essex, v. 99, p. 5645-5649, 2008.
- RAGUNATHAN, R.; GURUSAMY, R.; PALANISWAMY, M.; SWAMINATHAN, K. Cultivation of *Pleurotus* spp. on various agro-residues. **Food Chemistry**, Oxford, v. 55, n. 1, p. 139- 144, 1996.
- ROSSI, I. H.; MONTEIRO, A. C.; MACHADO, J. O. Desenvolvimento micelial de *Lentinula edodes* como efeito da profundidade e suplementação do substrato. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 36, n. 6, p. 887-891, 2001.
- SALES-CAMPOS, C.; ANDRADE, M. C. N. Aproveitamento de resíduos madeireiros para o cultivo do cogumelo comestível *Lentinus strigosus* de ocorrência na Amazônia. **Acta Amazonica**, Manaus, v. 41, n. 1, p. 1-8, 2011.
- SALES-CAMPOS, C.; MINHONI, M. T. A.; ANDRADE, M. C. N. Produtividade de *Pleurotus ostreatus* em resíduos da Amazônia. **Interciencia**, Caracas, v. 35, n. 3, p. 198-201, 2010.
- SALES-CAMPOS, C.; ANDRADE, M. C. N. Temperatura e meio de cultura mais favoráveis ao crescimento micelial de uma linhagem de *Lentinus strigosus* de ocorrência na Amazônia. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 77, n. 3, p. 539-543, 2010.
- SILVA, E. M.; MACHUCA, A.; MILAGRES, A. M. F. Effect of cereal brans on *Lentinula edodes* growth and enzyme activities during cultivation on forestry waste. **Letters in Applied Microbiology**, v. 40, p. 283-288, 2005.
- SNEDECOR, G. W. E.; COCHRAN, W. G. **Statiscal methods**. 6. ed. Iwoa State University Press, 1972. 593 p.
- SOFFNER, M. L. A. P. **Produção de polpa celulósica partir de engaço de bananeira**. 2001. 56 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Escola Superior "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2001.
- ZIED, D. C.; MINHONI, M. T. A.; KOPYTOWSKI FILHO, J.; ARRUDA, D. P.; ANDRADE, M. C. N. Produção de *Agaricus blazei* ss. Heinemann (*A. brasiliensis*) em função de diferentes camadas de cobertura e substratos de cultivo. **Interciencia**, Caracas, v. 34, n. 6, p. 437-442, 2009.