

AVALIAÇÃO *IN VITRO* DO CRESCIMENTO MICELIAL DE *Lentinula edodes* EM MEIOS DE CULTURA PREPARADOS À BASE DE RESÍDUOS AGROINDUSTRIAIS

Lorena Vieira Bentolila de AGUIAR¹; Ceci SALES-CAMPOS²; Meire Cristina Nogueira de ANDRADE³

¹Bolsista PIBIC/INPA; ²Co-orientadora CPPF/INPA; ³Orientadora Bolsista DCR-CNPq/FAPEAM /CPPF/INPA

1. Introdução

Atualmente, tem se intensificado o interesse pelo consumo e pelo estudo de cogumelos como o *Lentinula edodes* (Berk.) Pegler devido ao seu alto valor nutracêutico e gastronômico e sua capacidade de degradar resíduos lignocelulósicos (Minhoni *et al.*, 2007). Fungos lignolíticos como o *L. edodes* são capazes de degradar diferentes tipos de resíduos através de suas enzimas para a obtenção de compostos como carbono e nitrogênio entre outros nutrientes para o seu crescimento (Donini *et al.*, 2006). Com o exacerbado descarte de resíduos no meio ambiente, buscam-se formas para a utilização de variados resíduos agroindustriais como substratos no cultivo de cogumelos comestíveis (Bernabé-González *et al.*, 2006; Nyochembeng *et al.*, 2008) visando diminuir os impactos ambientais ocasionados pelos mesmos e gerar produtos de valor agregado a partir de subprodutos de baixo ou nenhum custo. Todavia, é necessária a seleção de resíduos com potencial para utilização na produção de cogumelos na região amazônica (Sales-Campos, 2008). A partir do uso de resíduos agroindustriais no crescimento micelial de *L. edodes* pretende-se viabilizar substratos alternativos para a utilização no cultivo de cogumelos comestíveis e diminuir impactos ambientais ocasionados pelos mesmos.

Dessa forma o presente estudo tem como objetivo testar a viabilidade de uso de subprodutos agroindustriais regionais alternativos de baixo custo e fácil aquisição visando uma futura aplicação na produção de cogumelos comestíveis. Para isto foi avaliado o crescimento micelial da linhagem LE-96/13 de *L. edodes* em meios de cultura à base de extrato de coroa de abacaxi e das cascas de cupuaçu, tucumã, banana prata e banana pacovan.

2. Material e métodos

Neste estudo foi utilizada a linhagem LE-96/13 de *L. edodes*, oriunda do Módulo de Cogumelos da UNESP, Botucatu/SP. Foi aplicado um delineamento experimental inteiramente casualizado em esquema fatorial 5 x 3, cujos tratamentos corresponderam às combinações de cinco tipos de resíduos agroindustriais e três níveis de suplementação, totalizando 15 tratamentos. Os tratamentos apresentam as seguintes composições: **T1** - Coroa de abacaxi (*Ananas comosus* (L.) Merrill) (100%); **T2** - Coroa de abacaxi (90%) + farelo de trigo (10%); **T3** - Coroa de abacaxi (80%) + farelo de trigo (20%); **T4** - Casca de tucumã (*Astrocaryum aculeatum* Meyer) (100%); **T5** - Casca de tucumã (90%) + farelo de trigo (10%); **T6** - Casca de tucumã (80%) + farelo de trigo (20%); **T7** - Casca de cupuaçu (*Theobroma grandiflorum* Schum) (100%); **T8** - Casca de cupuaçu (90%) + farelo de trigo (10%); **T9** - Casca de cupuaçu (80%) + farelo de trigo (20%); **T10** - Casca de banana pacovan (*Musa* sp., AAB Pacovan) (100%); **T11** - Casca de banana pacovan (90%) + farelo de trigo (10%); **T12** - Casca de banana pacovan (80%) + farelo de trigo (20%); **T13** - Casca de banana prata (*Musa* sp., AAB Prata) (100%); **T14** - Casca de banana prata (90%) + farelo de trigo (10%) e **T15** - Casca de banana prata (80%) + farelo de trigo (20%). Os resíduos foram secos ao sol, após a coleta, e conservados em sacos plásticos até o momento em que foram triturados. Cada resíduo triturado foi armazenado em frascos de vidro até o preparo dos meios de cultura. Conforme a metodologia proposta por Andrade (2007), em um recipiente previamente limpo foi feita a mistura dos ingredientes e a umidificação com água destilada até a obtenção de 60% de umidade. Os substratos resultantes destas misturas foram dispostos em frascos de vidro e autoclavados a 121 °C por meia hora. Para o preparo do meio de cultura, foram pesados 20g de cada substrato, sendo esta submetida à fervura em 250 mL de água destilada por 15 minutos. Em seguida, foi feita a filtração em peneira de malha fina com uma manta de algodão. O filtrado obtido foi disposto em frascos Duran, adicionado de 5g de ágar e autoclavado por 30 minutos. Após o resfriamento até 45-50 °C, os meios foram vertidos em placas de Petri em câmara de fluxo laminar. Foram inoculados discos de 7 mm de diâmetro da linhagem LE-96/13 do *L. edodes* nos

meios de cultura preparados. As placas foram distribuídas inteiramente ao acaso e mantidas em estufa incubadora a 25 °C por 9 dias. A cada 24 horas, a partir da data de inoculação, com auxílio de uma régua milimetrada, foram realizadas quatro medições do crescimento radial do micélio na superfície do meio de cultura, até que em um dos tratamentos, o micélio do *L. edodes* atingiu a proximidade das bordas da placa de Petri.

3. Resultados e discussão

Observou-se que nos meios de cultura sem suplementação e nos suplementados com 10% de farelo de trigo, cupuaçu e tucumã proporcionaram as maiores médias de crescimento micelial (Tabela 1). Porém, nos meios de cultura suplementados com 20% de farelo, apenas o cupuaçu apresentou a maior média de crescimento micelial. O meio à base de coroa de abacaxi foi o único que apresentou seu melhor resultado sem suplementação (Tabela 1). Resultados semelhantes foram obtidos por Donini *et al.* (2006) que estudando o desenvolvimento de *Agaricus brasiliensis* Wasser *et al.* em composto orgânico suplementado com diferentes farelos, verificou que nos tratamentos com adição de farelos de soja e arroz, houve redução de massa miceliana e velocidade de crescimento, quando comparados aos sem adição de farelos. Segundo Boyle (1998), o nitrogênio adicionado aos substratos lignocelulósicos nem sempre promove o crescimento micelial. Avaliando o crescimento micelial de *L. edodes* em bagaço de cana de açúcar suplementado com farelo de arroz e melaço de cana de açúcar, Rossi *et al.* (2001) observaram uma diminuição da miceliação à medida que aumentavam os níveis de suplementação com farelo de arroz. Os meios de casca de cupuaçu e casca de banana pacovan obtiveram seus melhores resultados com a suplementação de 20% de farelo de trigo (Tabela 1). Resultados semelhantes foram observados por Donini *et al.* (2006) que, avaliando a velocidade de crescimento e a massa miceliana de *A. brasiliensis* verificaram que o meio de cultura suplementado com 20% de farelo de trigo proporcionou as maiores médias. Silva *et al.* (2005), constataram que o tipo e a concentração dos suplementos influencia o crescimento de *L. 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, mas foram significativamente menores que as formulações com farelo de soja. Os meios de cultura à base de casca de tucumã e de casca de banana prata não apresentaram diferenças significativas no crescimento micelial entre os três níveis de suplementação com farelo de trigo (Tabela 1), ou seja, a suplementação não exerceu influência no crescimento do *L. edodes* nesses substratos. Os resultados obtidos comprovam que, além da suplementação, há variações no crescimento do *L. edodes* de acordo com os substratos utilizados. Andrade (2007) avaliando o crescimento de *L. edodes* em meios de cultura à base de serragem de diferentes espécies de eucalipto verificou diferenças no crescimento micelial entre as espécies de eucalipto. Diversos autores também observaram diferenças no desenvolvimento fúngico de acordo com o tipo de substrato utilizado no cultivo (Bernabé-González *et al.*, 2006; Gomes-da-Costa *et al.*, 2008; Nyochembeng *et al.*, 2008).

Tabela 1 - Crescimento micelial (mm) da linhagem LE-96/13 de *L. edodes* em meios à base de resíduos agroindustriais suplementados com farelo de trigo, após nove dias de incubação, a 25 °C.

Resíduos	Níveis de suplementação (%)		
	0	10	20
Coroa de abacaxi	52,37 C a ⁽¹⁾	49,87 C ab	48,82 D b
Casca de tucumã	63,12 A a	64,92 A a	63,67 B a
Casca de cupuaçu	64,97 A b	67,32 A ab	69,20 A a
Casca de banana pacovan	42,30 D c	47,42 C b	50,30 D a
Casca de banana prata	59,70 B a	58,77 B a	60,45 C a

⁽¹⁾ Médias seguidas de letras iguais, maiúscula em cada coluna e minúscula em cada linha, não diferem entre si pelo teste Tukey ($p < 0,05$). CV (%) = 2,76.

Verificaram-se diferentes comportamentos no crescimento micelial de *L. edodes* em cada um dos resíduos, durante o período de incubação (Figura 1). Os meios a base de casca de cupuaçu e de casca de banana pacovan apresentaram no decorrer do tempo, uma tendência de maiores médias de crescimento micelial nos tratamentos suplementados em relação ao tratamento testemunha, sem suplementação. Já para os meios a base de casca de tucumã e de casca de banana prata não houve esta tendência, ou seja, os tratamentos tiveram médias semelhantes entre si. Finalmente

para a coroa de abacaxi verificou-se um comportamento inverso, no qual houve uma tendência de maior crescimento micelial no meio não suplementado em relação ao suplementado.

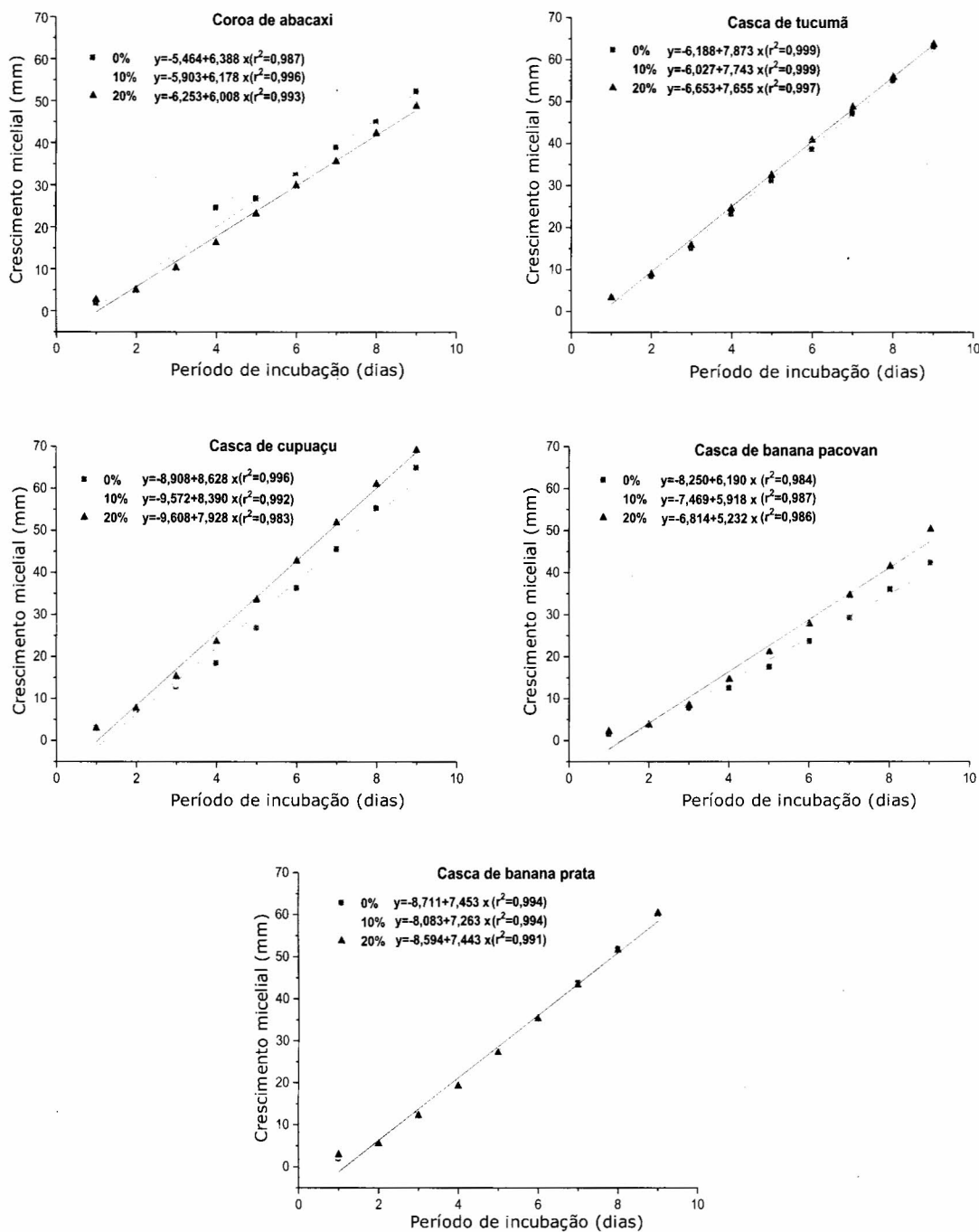


Figura 1 - Efeito dos níveis de suplementação com farelo de trigo no crescimento micelial da linhagem LE-96/13 de *Lentinula edodes* em meios de cultura à base de diferentes resíduos agroindustriais, durante 9 dias, a 25 °C.

4. Conclusão

As cascas de cupuaçu e de tucumã apresentaram potencial no crescimento micelial de *L. edodes* possibilitando a bioconversão desses resíduos em substratos para o cultivo de cogumelos comestíveis.

5. Referências

Andrade, M.C.N. 2007. *Crescimento micelial, produção e características bromatológicas do shiitake em função de linhagens e de propriedades físicas e químicas de espécies e clones de eucalipto*. Tese de Doutorado, Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, São Paulo. 195 pp.

Bernabé-González, T.; Mata, G.; Cayetano-Catarino, M.; Reyes, G.G. 2006. Cultivo experimental del hongo shiitake, *Lentinula edodes*, sobre dos subproductos agrícolas en Guerrero, México. *Revista Mexicana de Micología*, 23: 63-68.

Boyle, D. 1998. Nutritional factors limiting the growth of *Lentinula edodes* and other white-rot fungi in wood. *Soil Biology and Biochemistry*, 30(6): 817-823.

Donini, L.P.; Bernardi, E; Nascimento, J. S. 2006. Desenvolvimento in vitro de *Agaricus brasiliensis* em meios suplementados com diferentes farelos. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 41(6): 995-999.

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 Scientiarum Biological Sciences*, 30(2): 192-196.

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.

Nyochembeng, L.M.; Beyl, C.A.; Pacumbaba, R.P. 2008. Optimizing edible fungal growth and biodegradation of inedible crop residues using various cropping methods. *Bioresource Technology*, 99: 5645-5649.

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*, 36(6): 887-891.

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.