

Uso de resíduos madeireiros da Amazônia brasileira no cultivo *in vitro* de *Lentinus strigosus*

Use of wood waste from the Brazilian Amazon in the *in vitro* cultivation of *Lentinus strigosus*

Meire Cristina Nogueira de Andrade^{1(*)}

Ceci Sales-Campos²

Cristiane Suely Melo de Carvalho³

Lorena Bentolila de Aguiar⁴

Marli Teixeira de Almeida Minhoni⁵

Resumo

O *Lentinus strigosus* (Schwein.) Fr. é um cogumelo comestível ainda pouco cultivado, de ocorrência na Amazônia brasileira, que pode ser explorado. Para viabilizar economicamente o seu cultivo, a exemplo de outros cogumelos comestíveis, é recomendado a utilização de resíduos regionais de baixo ou nenhum custo. Assim, verificou-se o crescimento micelial de *L. strigosus* em meios de cultura preparados à base de extrato de resíduos madeireiros regionais (serragem) de breu (*Protium puncticulatum*), tauari (*Cariniana micrantha*) e piquiarana (*Caryocar glabum*) suplementadas com 20% de farelo de trigo (*Triticum aestivum*), farelo de milho (*Zea* sp.) ou farelo de arroz (*Oryza* sp.). A serragem de eucalipto (*Eucalyptus* sp.) foi utilizada para comparação com os demais resíduos madeireiros, por ser um resíduo comumente utilizado no cultivo de fungos comestíveis. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial 4 x 3 (serragens x farelos), totalizando 12 tratamentos com 5 repetições, sendo cada repetição correspondente a uma placa de Petri, totalizando 60 placas, incubadas a 35 °C. Avaliou-se, diariamente, o diâmetro da colônia até que, em um dos tratamentos, o fungo atingiu as proximidades da placa de Petri. Após esse período, observou-se que o meio à base de extrato de serragem de breu proporcionou

1 Pós-Doutora; Bióloga; Professora do Departamento de Produção Vegetal da Faculdade de Ciências Agronômicas, FCA – Universidade Estadual Paulista, UNESP; Endereço: Rua José Barbosa de Barros, 1780, Lageado, Caixa Postal: 237, CEP: 18610-307, Botucatu, São Paulo, Brasil; E-mail: mcnandrade@hotmail.com (*) Autora para correspondência.

2 Dra.; Tecnologia Florestal; Pesquisadora do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA), Centro de Pesquisas de Produtos Florestais, Preservação da Natureza; 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: cristianesmc@yahoo.com.br

4 Ciências Naturais; Professora da rede pública da Secretaria de Estado de Educação do Amazonas, SEDUC; Endereço: Rua Waldomiro Lustoza, 350, Japiim II, CEP: 69076-830, Manaus, Amazonas, Brasil; E-mail: lorenabentolila@yahoo.com.br

5 Livre-docência; Bióloga; Professora da Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, UNESP; Endereço: Rua José Barbosa de Barros, 1780, Lageado, Caixa Postal: 237, CEP: 18610-307, Botucatu, São Paulo, Brasil; E-mail: marliminhoni@fca.unesp.br

Recebido para publicação em 29/06/2012 e aceito em 08/08/2012

melhor desempenho de crescimento micelial do *L. strigosus* e apresenta, desta forma, potencial para ser utilizado como um resíduo alternativo em uma futura produção de *L. strigosus* no estado do Amazonas.

Palavras-chave: cogumelos; micélio; resíduos; suplementação.

Abstract

Lentinus strigosus (Schwein.) Fr. is an exploitable edible mushroom occurring in the Brazilian Amazon, being part of a huge diversity of edible mushrooms which are little grown. The use of regional waste is recommended to reduce production costs of any kind of edible mushroom. Thus, the mycelial growth of *L. strigosus* in culture media based on regional wood waste extract by using substrates based on *Protium puncticulatum*, *Cariniana micrantha* and *Caryocar glabum* sawdust, supplemented with 20% of wheat bran (*Triticum aestivum*), corn bran (*Zea* sp.) or rice bran (*Oryza* sp.) was observed. Eucalyptus (*Eucalyptus* sp.) sawdust was used for comparison with the other wood wastes because it is commonly used in the cultivation of edible fungi. The experimental design employed was totally randomized, in 4 x 3 factorial scheme (sawdust x bran), adding up 12 treatments with 5 repetitions, being that each repetition corresponded to a Petri dish, totalizing 60 dishes, incubated at 35 °C. The diameter of the colony was daily evaluated until the fungus reached the borders of the Petri dish in one of the treatments. After that period, the media based on *P. puncticulatum* sawdust obtained the best results of mycelial growth, showing potential to be used as an alternative residue in a future production of *L. strigosus* in the state of Amazonas.

Key words: mushrooms; mycelium; waste; supplementation.

Introdução

Fungos comestíveis são importantes fontes de proteína e alimentos apreciados, porém, apenas algumas espécies do gênero *Lentinus* têm sido cultivadas (STAMETS, 1993). Muitos cogumelos silvestres que ainda não são cultivados comercialmente têm uma grande importância etnomicológica como alimento e devem ter o seu potencial avaliado. Como o *Lentinus strigosus* é um fungo rústico, ainda não existem muitos estudos acerca do mesmo. Assim, há uma necessidade de estudos mais aprofundados para descobrir maneiras e técnicas de cultivá-lo, pois de acordo com Silva et al. (2005), o crescimento do micélio influencia a produção de cogumelos.

A produção de cogumelos comestíveis é desenvolvida em diferentes países com a

utilização de diversos substratos de origem florestal e resíduos agroindustriais disponíveis localmente (VARGAS-ISLA; ISHIKAWA, 2008). No Brasil, o resíduo florestal mais utilizado tem sido o *Eucalyptus* sp., mesmo não sendo nativo no país. No entanto, devido à baixa disponibilidade desta arbórea na região Amazônica, é necessário avaliar a utilização de insumos regionais e sua viabilidade econômica para a produção de cogumelos comestíveis (SALES-CAMPOS e ANDRADE, 2011; SALES-CAMPOS et al., 2010).

Com a grande exploração de madeira na Amazônia, são necessárias medidas com relação ao aproveitamento de seus resíduos, gerados pelo processamento da indústria. O potencial de uso dessa enorme quantidade de resíduos vem sendo subestimado pela

indústria madeireira regional (BARBOSA et al., 2001).

A piquiarana (*Caryocar glabum*) é uma madeira pesada usada na construção civil em lambris, painéis, molduras, vigas, caibros. Também usada como tacos e tábuas para assoalho, coberturas, pisos e forros de embarcações; cabos de ferramentas; cutelaria, barris; tonéis. O tauari (*Cariniana micrantha*) é uma madeira moderadamente pesada e macia e é usada em peças encurvadas, cabos de vassoura, moveis de uso em geral. O breu (*Protium* sp.) é uma árvore pequena e espessa, bastante usada em acabamentos internos, móveis populares, marcenarias e construção em geral (PAULA; ALVES, 1997). E como todas as outras madeiras que são exploradas na Amazônia, seus resíduos ainda não são totalmente aproveitados.

Com a aplicação de resíduos alternativos locais no crescimento micelial de *L. strigosus*, pretende-se apresentar outras opções de utilização de substratos no cultivo de cogumelos no estado do Amazonas e diminuir os impactos ambientais ocasionados pelo seu descarte na natureza.

Assim, este estudo teve como objetivo testar a potencialidade de uso de resíduos madeireiros regionais da Amazônia. Para tal foi avaliado o crescimento micelial de *L. strigosus* em meios de cultura à base das serragens de tauari, breu, piquiarana e eucalipto suplementados com farelos de cereais (trigo, milho e arroz).

Material e Métodos

O experimento foi realizado na Coordenação de Pesquisas em Produtos Florestais - CPPF, do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia - INPA, em Manaus (AM).

Uma cultura pura de *L. strigosus* foi utilizada, a qual, originalmente, foi coletada na estrada AM 240, km 10 (estrada de Balbina - AM), sendo posteriormente identificada e depositada na Coleção de Microrganismos de Interesse Agrossilvicultural, do Laboratório de Patologia da CPPF/INPA, em tubos de ensaio contendo meio de cultura BDA, com número de registro N°. 1466.

Os resíduos madeireiros regionais utilizados foram provenientes de breu, piquiarana e tauari e a serragem de eucalipto, sendo esta última utilizada como testemunha, por ser uma madeira de uso comum no cultivo de fungos comestíveis. Os farelos utilizados foram de trigo, milho e arroz, tradicionalmente utilizados no cultivo de cogumelos comestíveis, sendo adquiridos no mercado municipal de Manaus (AM). Os resíduos madeireiros foram obtidos na Coordenação de Pesquisas em Produtos Florestais, INPA, e foram triturados para a utilização no experimento, cuja granulometria foi de 2 - 3mm. Posteriormente, os resíduos foram armazenados e identificados até o preparo dos meios de cultura.

Os meios de cultura utilizados na avaliação do crescimento micelial de *L. strigosus* foram preparados à base das serragens acima especificadas, suplementadas com 20% dos farelos de trigo, de milho ou de arroz. A mistura desses materiais resultou em 12 tipos de substratos (tratamentos experimentais). Essas misturas foram umidificadas com água destilada até 60% e autoclavadas a 121 °C por meia hora. Em seguida, após resfriamento desses substratos até temperatura ambiente, foram pesados 20g de cada um destes e submetidos à fervura em 250 mL de água destilada, durante 15 minutos, seguido de filtração deste extrato

em uma peneira comum com manta de algodão. O extrato obtido foi disposto em frascos Duran, sendo completado o volume para 250 mL com água destilada, e adicionado 5g de ágar em cada frasco e os mesmos foram autoclavados a 121 °C por 30 minutos. Finalmente, os meios foram resfriados até aproximadamente 45-50 °C e 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 inóculo de *L. strigosus* foram transferidos para as placas de Petri contendo esses meios de cultura. As placas foram distribuídas inteiramente ao acaso e mantidas em estufa incubadora a 35 °C. Durante este período, a cada 24 horas, a partir da data de inoculação, com auxílio de uma régua graduada em milímetros, foram realizadas quatro medições do crescimento radial do micélio na superfície do meio, até que em um dos tratamentos, o micélio atingiu as bordas da placa de Petri.

Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Para tal, foi utilizado o

programa SISVAR 4.2 desenvolvido pelo Departamento de Ciências Exatas, da Universidade Federal de Lavras - UFLA, Lavras (MG). As análises de regressão foram feitas no programa MicroCal Origin™ 3.0.

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial 4 x 3, cujos tratamentos corresponderam às combinações dos 4 tipos de madeiras e 3 tipos de farelos, totalizando 12 tratamentos. Cada tratamento foi constituído por cinco repetições, sendo cada repetição correspondente a uma placa de Petri, totalizando 60 placas.

Resultados e Discussão

Uma interação significativa ocorreu entre os tipos de madeira e suplementos e da interação entre estes dois fatores (Tabela 1).

Vários autores já relataram diferenças de crescimento micelial de fungos comestíveis em função do meio de cultura (SALES-CAMPOS et al., 2011; SALES-CAMPOS; ANDRADE, 2010; GOMES-DA-COSTA et al., 2008; MARINO et al., 2008). Aguiar et al. (2011), avaliando o crescimento micelial de *Lentinula edodes* em meios de cultura à base de

Tabela 1. Crescimento micelial (mm) de *Lentinus strigosus* em meios de cultura à base de diferentes resíduos madeireiros, suplementados com 20% de farelos de trigo, milho ou arroz, por quatro dias, a 35 °C

Madeiras	Tipo de farelos (%)		
	Trigo	Milho	Arroz
Breu	75,65 A a	70,45 AB a	71,70 A a
Eucalipto	46,30 C b	74,10 A a	46,25 B b
Piquiarana	61,15 B a	64,35 B a	38,20 B b
Tauari	61,65 B b	47,90 C c	71,35 A a

Notas: Médias seguidas de letras iguais, maiúscula em cada coluna e minúscula em cada linha, não diferem entre si ($p < 0,05$). CV (%) = 8,99.

diferentes resíduos orgânicos, verificaram que os meios à base de cupuaçu e de tucumã proporcionaram os melhores desempenhos, quando comparados aos resíduos de casca de banana e coroa de abacaxi. Andrade et al. (2008), avaliando o crescimento de *L. edodes* em meios de cultura à base de serragem de diferentes espécies de eucalipto, também verificaram diferenças no crescimento do fungo entre os meios de cultura, obtendo o melhor resultado no meio à base de *E. citriodora*.

Ao comparar o crescimento micelial de *L. strigosus* em cada meio utilizado, o tipo de suplementação não influenciou o crescimento micelial do fungo quando o resíduo breu foi utilizado como substrato (Tabela 1). Resultados semelhantes foram obtidos por Donini et al. (2006) que, avaliando o efeito da suplementação com farelos no crescimento micelial de *Pleurotus ostreatus* em meios à base de capim-elefante, verificaram que os farelos de arroz e milho não apresentam efeito estimulador para o aumento da biomassa e do crescimento radial da colônia deste fungo.

Nos meios à base de eucalipto, o milho se destacou significativamente dentre os demais farelos avaliados. Entre os meios à base de piquiarana, as maiores médias foram obtidas com a utilização de trigo e milho como suplemento. Já para os meios de tauari, o arroz foi o melhor suplemento, proporcionando crescimento superior quando comparado aos demais farelos empregados. Pedra e Marino (2006), utilizando serragem de casca de coco para avaliar o crescimento de *P. ostreatus*, obtiveram melhor crescimento micelial quando a serragem foi suplementada com farelo de trigo ou de arroz. Donini et al. (2006) utilizando os mesmos farelos,

mas em resíduo de capim-elefante para o *P. ostreatus*, observou bons resultados ao empregar o farelo de trigo como suplemento.

O crescimento micelial do *L. strigosus* dentro de cada tipo de farelo, dentre todos os meios suplementados com trigo, o breu apresentou os maiores resultados. Dentre os meios suplementados com milho, o eucalipto e o breu apresentaram as maiores médias de crescimento. Finalmente, entre os meios suplementados com o farelo de arroz, o breu e o tauari obtiveram resultados superiores aos demais resíduos madeireiros. Estes resultados estão de acordo com Gomes-da-Costa et al. (2008), avaliando o crescimento micelial do *L. edodes* em diferentes combinações de resíduos madeireiros e agrícolas suplementados, onde relatam que um mesmo suplemento em uma mesma concentração pode apresentar efeitos diferentes dependendo do substrato utilizado como base na combinação.

Dessa forma, os resultados obtidos comprovam que houve variações no crescimento micelial do *L. strigosus* em função do meio de cultura utilizado. Adicionalmente, foram observados diferentes comportamentos no crescimento micelial de *L. strigosus* durante o período de incubação frente a cada resíduo utilizado (Figura 1). Nos meios à base de breu, a partir do terceiro dia, o meio suplementado com trigo atingiu maiores médias de crescimento em relação aos demais. Nos meios à base de piquiarana e de eucalipto verificou-se, no decorrer do tempo, maiores taxas de crescimento nos meios suplementados com milho. Já para os meios à base de tauari observou-se, no decorrer do tempo, melhor desenvolvimento fúngico nos meios suplementados com arroz.

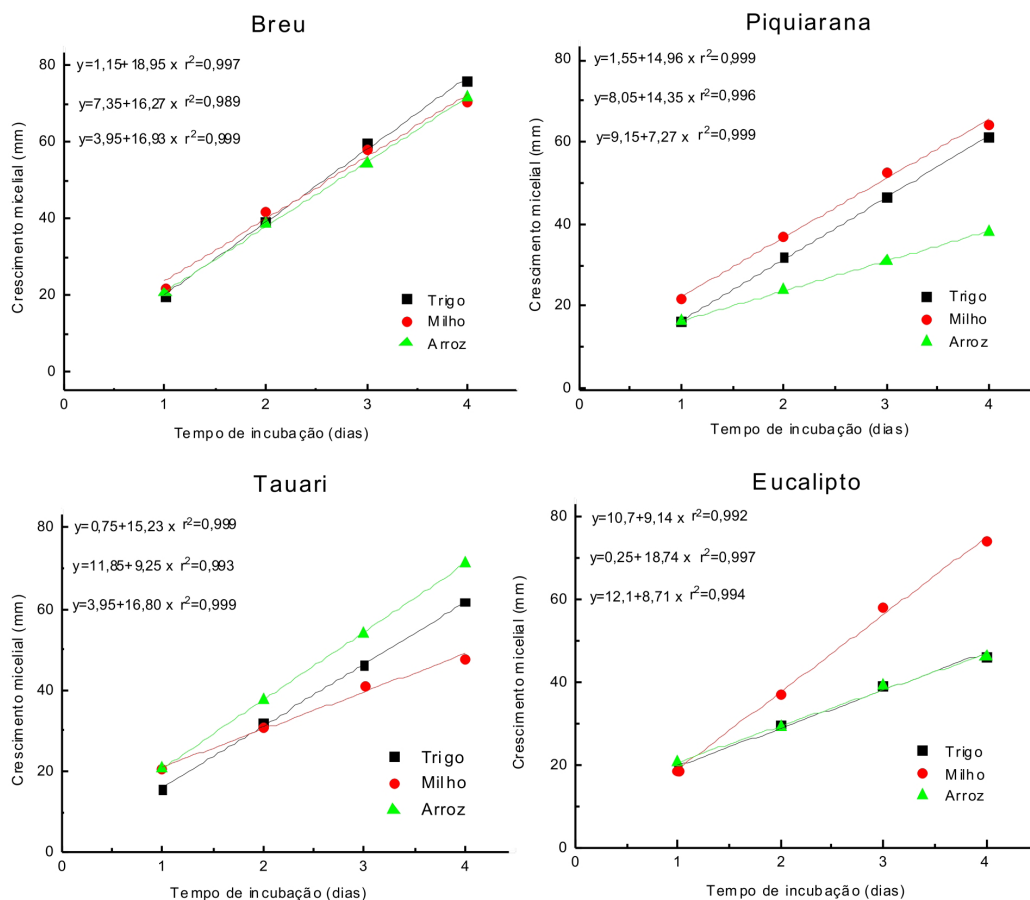


Figura 1. Efeitos das combinações de substratos e suplementos no crescimento micelial de *Lentinus strigosus* incubado por quatro dias a 35 °C

Considerações Finais

A partir dos resultados obtidos, verifica-se que a utilização dos resíduos madeireiros de breu, piquiarana e tauari apresentaram potencial no crescimento de *L. strigosus*. Esta respectiva aplicação pode vir a proporcionar substratos alternativos para o cultivo de cogumelos comestíveis na região e,

ao mesmo tempo, auxiliar na diminuição dos impactos ambientais causados pelo depósito desses resíduos na natureza. O emprego do resíduo de breu proporcionou melhor desempenho de crescimento micelial do *L. strigosus* e apresenta, desta forma, potencial para ser utilizado como substrato a fim de ampliar o cultivo de cogumelos no estado do Amazonas.

Referências

AGUIAR, L.V.B.; SALES-CAMPOS, C.; CARVALHO, C.S.M.; MINHONI, M.T.A.; ANDRADE, M.C.N. Desenvolvimento Micelial de *Lentinula edodes* em meios de cultivo à base de diferentes substratos orgânicos. **Interciências**, v.36, n.3, p.205-210, 2011.

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, 2008.

BARBOSA, A.P.; VIANEZ, B.F.; VAREJÃO, M.J; ABREU, R.L.S. Considerações sobre o perfil tecnológico do setor madeireiro na Amazônia Central. **Parcerias Estratégicas**, v.6, n.12, p.42-61, 2001.

DONINI, L.P.; BERNARDI, E; MINOTTO, E.; NASCIMENTO, J. S. 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**, São Paulo, v.73, n.3, p.303-309, 2006.

FERREIRA, D.F. **SISVAR versão 4.2**. Lavras: Dex/UFLA, 2003.

GOMES-DA-COSTA, S.M.; COIMBRA, L.B.; SILVA, E.S. Crescimento micelial de dois isolados de *Lentinula edodes* (Berk.) Pegler, em resíduos ligninocelulósicos. **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.

MICROCAL SOFTWARE INC. **Data analysis and techbical graphics software**. Origin Professional Version 3.0. Northampton, MA: Copyright ©, [199-].

PAULA, J.E; ALVES J.L.H. **Madeiras nativas. Anatomia, Dendrologia, Dendrometria, produção e uso**. Brasília: MDA, 1997.

PEDRA, W.N.; MARINO, R.H. Cultivo Axêmico de *Pleurotus* spp em serragem da casca de coco (*Cocos nucifera* Linn.) suplementado com farelo de arroz e/ou trigo. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.73, n.2, p.219-225, 2006.

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.

_____. 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.

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.

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, n.4, 283-288, 2005.

STAMETS, P. **Growing gourmet and medicinal mushrooms**. 3. ed. Berkeley: Ten Speed Press. Califórnia, USA, 1993.

VARGAS-ISLA, R.; ISHIKAWA, N.K. Optimal conditions of *in vitro* mycelial growth of *Lentinus strigosus*, an edible mushroom isolated in the Brazilian Amazon. **Mycoscience**, v.49, n.3, 215-219, 2008.