

Cultivo *in vitro* de *Pleurotus ostreatus* em resíduos de bananeira

In vitro cultivation of *Pleurotus ostreatus* in banana tree residues

Cristiane Suely Melo de Carvalho¹
Lorena Vieira Bentolila de Aguiar²
Ceci Sales-Campos³
Marli Teixeira de Almeida Minihoni⁴
Meire Cristina Nogueira de Andrade^{5(*)}

Resumo

Esse trabalho teve por objetivo avaliar o crescimento micelial de *Pleurotus ostreatus* (linhagem POS 09/100) em meios de cultura à base de diferentes resíduos de bananeira. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado em esquema fatorial 3 x 4, consistindo em três combinações de resíduos (pseudocaule, folha e pseudocaule + folha) e quatro cultivares de bananeira (Thap Maeo, Prata Anã, Pelipita e Caipira), totalizando doze tratamentos cada um com cinco repetições, totalizando sessenta unidades experimentais. O crescimento foi medido a cada 24 horas, até que o micélio de um dos tratamentos atingisse a borda da placa de Petri, o que ocorreu após cinco dias de experimentação. Os resultados obtidos demonstraram que todas as combinações de resíduos de bananeira foram favoráveis ao crescimento micelial do *P. ostreatus*, com destaque para pseudocaule + folha, das cultivares Pelipita, Thap maeo e Prata anã. Assim, a utilização dos resíduos de bananeira mostrou-se viável para o cultivo de *P. ostreatus*, apresentando-se como

-
- 1 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
 - 2 Graduada em 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
 - 3 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
 - 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 Armanda, 10-50, Bairro Jardim Brasil, CEP: 17011-160, Bauru, São Paulo, Brasil/ E-mail: mcnandrade@hotmail.com (*) Autora para correspondência.

Recebido para publicação em 23/01/2013 e aceito em 28/06/2013

uma ótima alternativa para o cultivo, além de diminuir a sua disposição no meio ambiente.

Palavras-chave: cogumelos comestíveis; resíduos; micélio.

Abstract

The objective of this paper was to evaluate the mycelial growth of *Pleurotus ostreatus* (strain POS 09/100) in culture media based on different banana tree residues. The experimental design was totally randomized in 3 x 4 factorial scheme and consisted in three combinations of residues (pseudostem, leaf and pseudostem + leaf) and four banana tree cultivars (Thap Maeo, Prata Anã, Pelipita and Caipira), totalizing twelve treatments each with five repetitions, adding up sixty experimental units. Growth was measured every 24 hours until the mycelium of one of the treatments reached the border of the Petri dish, what occurred five days after the beginning of the experiment. The results obtained showed that all the combinations of banana tree residues were favorable to *P. ostreatus* mycelial growth, especially pseudostem + leaf of Pelipita, Thap maeo and Prata anã cultivars. Thus, the use of banana tree residues is viable for cultivation of *P. ostreatus*, and considered as an excellent alternative, besides reducing their disposal in the environment.

Key words: edible mushrooms; residues; mycelium.

A importância dos cogumelos comestíveis vem crescendo devido ao avanço da tecnologia de cultivo, que possibilita a utilização de resíduos agropecuários e industriais, reciclando-os como substratos para o cultivo e, conseqüentemente, resultando em redução no custo de produção e também um mercado contínuo (EIRA, 2004). Além disso, representam uma ótima alternativa para a utilização de vários resíduos, ajudando a resolver o problema da poluição, causada pela disposição desses materiais no meio ambiente (PANDEY, 2000).

As espécies de cogumelos comestíveis mais conhecidas são o champignon [*Agaricus bisporus* (J. E. Lange) Imbach], o cogumelo gigante ou caetetuba [*Pleurotus ostreatus* (Jacq.) Kumm.] e o shiitake [*Lentinula edodes*

(Berk.) Pegler]. Dentre essas se destaca o *P. ostreatus* que, além de ser delicioso e possuir valor nutritivo elevado, não é muito exigente em relação ao substrato, desenvolvendo-se perfeitamente em condições rústicas de cultivo ou no seu habitat natural. Está distribuído em todo mundo, principalmente em ambientes de florestas (BONONI et al., 1999; FURLANI; GODOY, 2007).

Sendo um fungo de podridão branca de madeira, *Pleurotus ostreatus* desenvolve-se com eficiência em resíduos lignocelulolíticos, tais como palhas de trigo e milho, resíduos de algodão e coco, bagaço de cana-de-açúcar, serragem, etc., pois são providos de enzimas específicas que degradam compostos lignocelulolíticos presentes nesse tipo de matéria-prima (ABREU et al., 2007).

Outro material com grande potencial para ser utilizado como substrato no cultivo de *P. ostreatus* é o resíduo da cultura da banana (BONATTI, 2004; MOTATO et al., 2006; SANTOS et al., 2000; STURION, 1994).

Alguns trabalhos têm sido realizados, a fim de averiguar o potencial do pseudocaule de bananeira na produção de polpa celulósica para a produção de papel (SOFFNER, 2006). No entanto, poucas pesquisas foram desenvolvidas no que diz respeito à utilização de resíduos da bananicultura como substrato para o cultivo de cogumelos comestíveis (STURION, 1994). Assim, o objetivo deste trabalho foi analisar o crescimento micelial da linhagem POS 09/100 de *P. ostreatus*, em meios de cultura à base de diferentes resíduos de bananeira.

A linhagem de *P. ostreatus* utilizada foi a POS 09/100, procedente do Módulo de Cogumelos, Faculdade de Ciências Agrônomicas, UNESP, Botucatu (SP), e está armazenado em óleo mineral no Laboratório de Cultivo de Cogumelos, do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA).

Os resíduos dos cultivares de bananeira (pseudocaulares e folhas) pertencentes ao gênero *Musa* spp. das cultivares Thap-Maeo, Prata-anã, Pelipita e Caipira (grupos genômicos AAB, AAB, ABB e AAA, respectivamente) foram obtidos na Unidade Experimental da Embrapa Amazônia Ocidental, Rodovia AM-10, km 29, Manaus, Amazonas.

O experimento foi inteiramente casualizado em esquema fatorial 3 x 4, correspondente a três combinações de resíduos (pseudocaule, folha e pseudocaule + folha) e quatro cultivares de bananeira

(Thap-Maeo, Prata-anã, Pelipita e Caipira), com seis repetições (placas de Petri), totalizando 72 unidades experimentais.

Em condições assépticas, a linhagem foi inoculada com o auxílio de uma espátula em placas de Petri, contendo meio bata dextrose Agar (BDA) e incubado a 25 °C, com ausência de luz até total colonização do meio pelo fungo.

Para verificar o crescimento micelial da linhagem de *P. ostreatus*, foi utilizado o meio de cultura substrato Agar (SA), conforme metodologia proposta por ANDRADE et al. (2008). A formulação do meio de cultura foi realizada utilizando-se 80% de pseudocaule e/ou folhas de bananeira suplementadas com 20% de farelo de trigo (Tabela 1). Em seguida, foi feita a mistura dos componentes e adicionou-se água destilada, até que o teor de umidade atingisse 60%. Após o preparo, os substratos foram dispostos em frascos de vidros com capacidade de 150 mL cada, sendo posteriormente autoclavados a 121 °C durante quarenta minutos.

Para o preparo do meio de cultura, 20 g do substrato anteriormente preparado foi submetido à fervura em 250 mL de água destilada, durante quinze minutos. A mistura foi posteriormente filtrada em uma peneira comum de uso doméstico com o auxílio de uma malha fina de algodão. O filtrado foi inserido em frascos de vidro (com capacidade de 250 mL) e neles foram adicionados 5 g de Agar. Em seguida, foram autoclavados a 121 °C durante trinta minutos. Após atingir uma temperatura em torno de 40 °C o meio foi vertido em placas de Petri esterilizadas e identificadas em câmara de fluxo laminar.

Tabela 1 – Tratamentos utilizados para avaliar o crescimento micelial e a produção da linhagem POS 09/100 de *Pleurotus ostreatus* em substratos à base resíduos de bananeira mais 20% de farelo

Resíduo	Cultivar de bananeira
Pseudocaule Folha pseudocaule + folha (1:1)	Thap-Maeo
Pseudocaule Folha pseudocaule + folha (1:1)	Prata-anã
Pseudocaule Folha pseudocaule + folha (1:1)	Pelipita
Pseudocaule Folha pseudocaule + folha (1:1)	Caipira

Fonte: Autores (2013).

Com os meios já resfriados e solidificados, foi realizada a inoculação dos substratos com a matriz secundária, conforme estabelecido nos tratamentos (Tabela 1). Para isso, em câmara de fluxo laminar, com o auxílio de uma espátula, discos de 7 mm de diâmetro da colônia foram transferidos para o centro dos meios de cultura. As placas foram vedadas com filme PVC, identificadas e distribuídas aleatoriamente em estufa BOD com temperatura ajustada para 25 °C.

Foi analisado o crescimento do fungo, medindo-se o raio da colônia em oito direções ortogonais com uma régua milimetrada a cada 24 horas, até o momento em que a colônia de um dos tratamentos atingisse a borda da placa. Os dados médios obtidos em cada tratamento foram comparados entre si.

Comparando o crescimento micelial nos meios de cultura à base de cultivares de bananeira dentro de cada combinação de resíduo (Tabela 2), observa-se que, em relação ao meio de cultura preparado à base de folha, a maior média de crescimento micelial foi obtida pela cultivar Caipira (70,96 mm). Já para o meio de cultura

à base de pseudocaule, a cultivar Prata Anã foi o que apresentou a maior média de crescimento (70,50 mm), a qual não diferiu significativamente da cultivar Caipira (69,26 mm). Finalmente, dentro da combinação pseudocaule + folha, não foram observadas diferenças significativas entre as cultivares de bananeira.

Quando comparada as médias de crescimento micelial das combinações de resíduos dentro de cada cultivar de bananeira (Tabela 2), verificou-se que o tratamento que utilizou o meio de cultura à base de pseudocaule + folha foi o que obteve os melhores resultados para a cultivar Thap Maeo (69,20 mm), porém não diferiu significativamente do resíduo pseudocaule (67,76 mm). Dentro da cultivar Prata Anã, as maiores médias de crescimento foram obtidas no meio à base de extrato de pseudocaule (70,50 mm) e pseudocaule + folha (69,75 mm). Já na cultivar Pelipita, somente o tratamento à base de pseudocaule + folha apresentou os melhores resultados (69,73 mm). Finalmente, na cultivar Caipira, não houve diferenças significativas entre nenhum dos resíduos testados.

Tabela 2 - Crescimento micelial (mm) *in vitro* da linhagem POS 09/100 de *Pleurotus ostreatus* em substrato à base de resíduos [pseudocaule, folha e pseudocaule + folha (1:1)] de quatro cultivares de bananeira (Thap maeo, Prata anã, Pelipita e Caipira), após seis dias de incubação, a 25 °C (Média de seis repetições)

Cultivares de bananeira	Resíduos		
	folha	pseudocaule	pseudocaule + folha
Thap Maeo	67,03B b	67,76B ab	69,20A a
Prata Anã	66,06B b	70,50A a	69,75A a
Pelipita	66,63B b	64,88C b	69,73A a
Caipira	70,96A a	69,26AB a	70,35A a

Fonte: Autores (2013).

Nota: Médias seguidas de letras iguais, maiúsculas em cada coluna e minúsculas em cada linha não diferem entre si ($P < 0,05$) e CV (%) = 1,98.

As diferenças observadas no crescimento e comportamento do fungo nos substratos devem-se, provavelmente, a composição dos mesmos (Tabela 3). Embora não haja trabalhos que relatem a comparação de crescimento micelial

de *P. ostreatus* em diferentes cultivares de bananeira, sugere-se que a velocidade de crescimento micelial, bem como a produção de cogumelos, seja influenciada pelas suas composições estruturais, minerais e nutricionais distintas.

Tabela 3 - Composição centesimal, pH e C:N dos substratos iniciais (matéria prima com suplementação de 20% de farelo de trigo)

Tratamentos	C (%)	N (%)	C:N	pH
Pseudocaule – Thap Maeo	47,8	1,1	41:1	6,5
Folha - Thap Maeo	47,8	2,1	23:1	6,6
Pseudocaule + folha – Thap Maeo	46,5	1,5	30:1	6,5
Pseudocaule - Prata Anã	45,9	1,1	40:1	6,9
Folha - Prata Anã	44,4	2,1	21:1	7,1
Pseudocaule + folha - Prata Anã	45,3	1,7	27:1	7,1
Pseudocaule – Pelipita	45,0	1,1	40:1	6,7
Folha – Pelipita	45,3	2,2	20:1	7,0
Pseudocaule + folha – Pelipita	44,7	1,4	33:1	6,8
Pseudocaule – Caipira	47,2	1,1	43:1	6,0
Folha – Caipira	45,3	2,2	21:1	6,8
Pseudocaule + folha – Caipira	36,5	1,7	27:1	6,4

Fonte: Autores (2013).

Gomes-da-Costa et al. (2008), ao testar diferentes substratos lignocelulolíticos no crescimento micelial de dois isolados de *Lentinula edodes*, obtiveram resultados que variaram de acordo com o tipo de

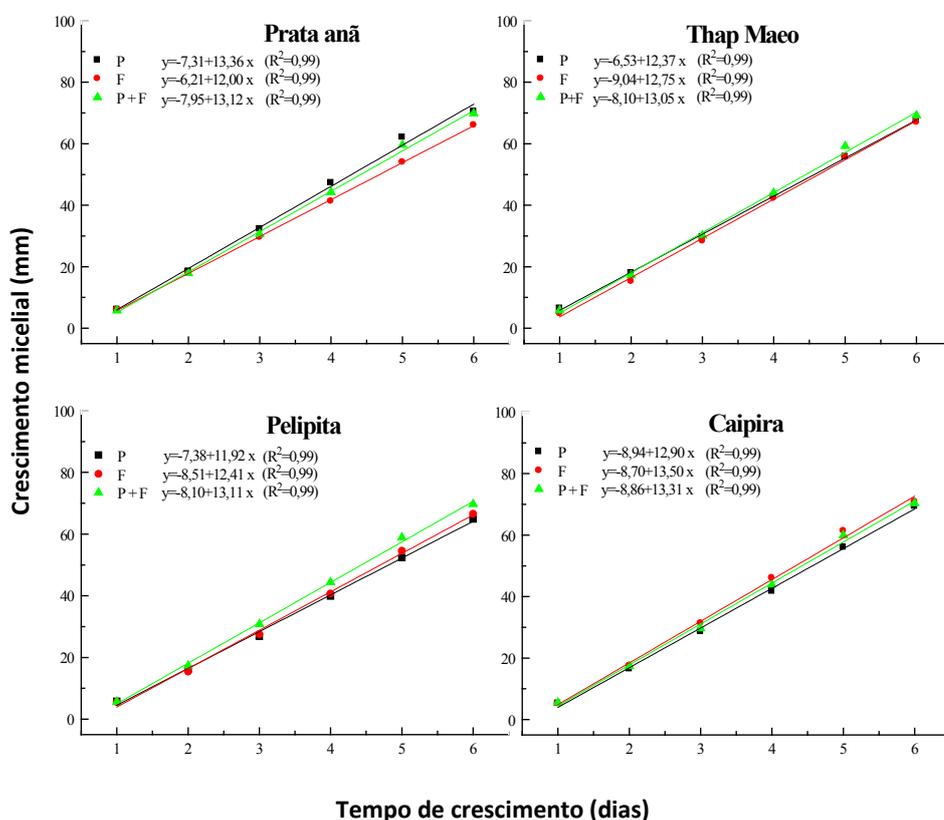
substratos e a linhagem da espécie estudada. Interações significativas entre as diferentes composições dos meios de cultura testados e o desenvolvimento micelial do fungo foram observadas por Andrade et al. (2008) ao

realizar a avaliação do crescimento micelial de *L. edodes* em extratos de dez tipos de eucalipto.

Analisando o crescimento micelial do fungo em relação às cultivares de bananeiras testadas (Figura 1), verificou-se que para os meios de cultura à base de extratos de resíduos das cultivares de bananeira Thap Maeo e Pelipita, os que utilizaram resíduo

de pseudocaule + folha foram os que proporcionaram ao fungo uma tendência de maior crescimento ao longo dos seis dias de experimento. Na cultivar Prata Anã, observou-se um crescimento menor no meio de cultura à base de folha. Finalmente, dentro da cultivar Caipira, todos os tratamentos apresentaram velocidade de crescimento semelhante.

Figura 1 - Crescimento micelial (mm) da linhagem POS 09/100 de *Pleurotus ostreatus* em meios de cultura à base de resíduos de bananeira



Legenda: ■ Pseudocaule (P), ● Folha (F) e ▲ Pseudocaule + folha (P + F), a 25° C.

Fonte: Autores (2013).

Em relação ao tempo de colonização do meio, de uma forma geral o crescimento micelial da linhagem POS 09/100 de *P. ostreatus* foi relativamente rápido. Essa característica é favorável, principalmente em um sistema de produção, pois, com um tempo de colonização menor, reduz-se o risco de contaminação e o período de incubação e formação dos basidiomas, tornando a produção mais promissora (MARINO et al., 2008). O mesmo tempo de crescimento (seis dias) também foi observado na avaliação do crescimento micelial de *A. brasiliensis* em meio CDA (composto-dextrose-agar) suplementado com várias concentrações de diferentes tipos de farelos (DONINI et al., 2005). O melhor resultado foi obtido utilizando-se 20% de farelo de soja.

Minotto (2007) obteve seis dias de incubação ao realizar o crescimento micelial de *P. ostreatus* em meios de cultura preparados à base de palha de arroz suplementados com serragem de couro curtida com tanino vegetal nas concentrações: 0, 5, 10, 15, 20, 25 e 30%. Verificou que o crescimento micelial diminuiu à medida que as concentrações do suplemento serragem de couro foram aumentadas.

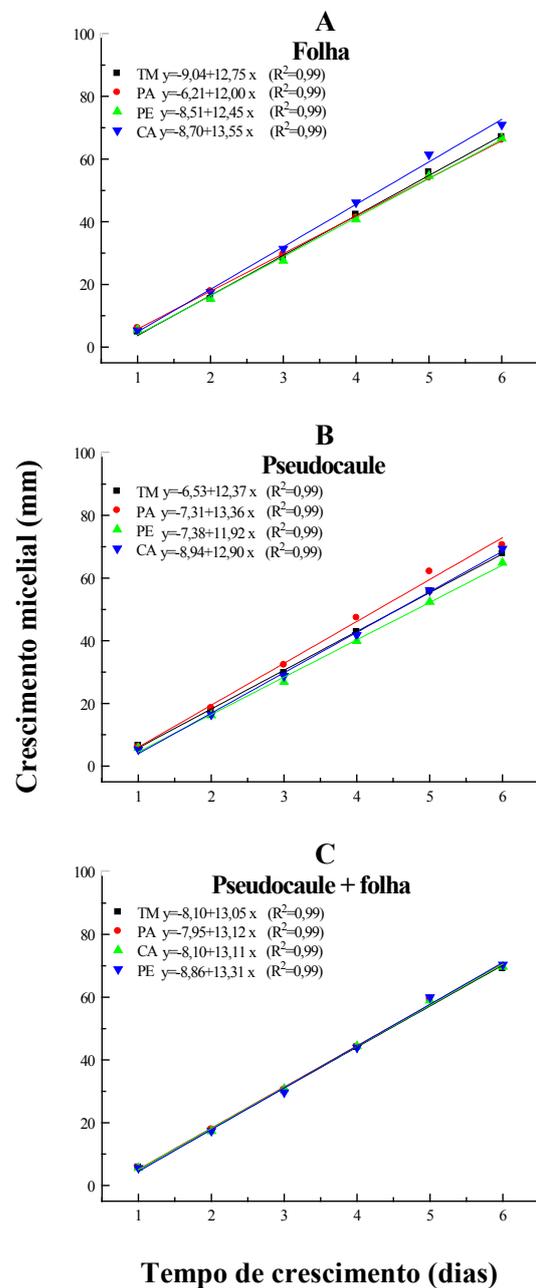
O crescimento micelial de *P. sajor-caju* em resíduos de bananeira também foi

estudado por Motato et al. (2006), durante nove dias, sendo que os melhores resultados foram obtidos utilizando meio à base de extrato de folhas e de folhas + serragem de Jequitibá. Não foi observado nenhum crescimento no meio de cultura à base de pseudocaule.

Motato et al. (2006), ao avaliar o crescimento micelial de *P. djamor* em resíduos de bananeira (folhas, frutos e pseudocaule), misturados com serragem de jequitibá em diferentes temperaturas, (15, 20 e 26 °C) observou que os tratamentos compostos por folhas de bananeira apresentaram um crescimento micelial significativamente maior aos demais tratamentos.

Utilizando-se extrato de pseudocaule como meio de cultura, observou-se que a cultivar Prata não sobressaiu-se sobre as demais, principalmente a partir do terceiro dia de incubação. Já o menor crescimento foi observado na cultivar Pelipita (Figura 2 A). Quando se utilizou a formulação folha (100%), observou-se que cultivar Caipira apresentou uma tendência de crescimento superior às demais a partir do terceiro dia de avaliação (Figura 2 B). Finalmente, os meios formulados com a combinação pseudocaule + folha nas quatro cultivares testadas apresentaram um crescimento similar em todos os dias de avaliação (Figura 2 C).

Figura 2 - Crescimento micelial (mm) da linhagem POS 09/100 de *P. ostreatus* em meios de cultura à base de resíduos de quatro cultivares de bananeira



Legenda: ■ *Thap maeo* (TM), ● *Prata anã* (PA), ▲ *Caipira* (CA) e ▼ *Pelípita* (PE), após seis dias de incubação, a 25 °C.

Fonte: Autores (2013).

Considerações Finais

A partir dos resultados obtidos, verifica-se que a utilização dos resíduos de bananeira mostrou-se viável para o

cultivo *in vitro* da linhagem POS 09/100 de *P. ostreatus*, apresentando-se como uma ótima alternativa para o cultivo, além de diminuir a sua disposição no meio ambiente.

Referências

ABREU, L. D.; MARINO, R. H.; MESQUITA, J. B.; RIBEIRO, J. T. Degradação da madeira de *Eucalyptus* sp. por basidiomicetos de podridão branca. **Arquivo do Instituto Biológico**, v. 74, n. 4, p. 321-328, 2007.

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**, v.30, n. 3, p. 333-337, 2008.

BONATTI, M.; KARNOPP, P.; SOARES, H. M.; FURLAN, S. A. Evaluation of *Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus sajor-caju* nutritional characteristics when cultivated in different lignocellulosic wastes. **Food Chemistry**, v. 88, n. 3, p. 425-428, 2004.

BONONI, V. L.; CAPELARI, M.; TRUFEM, S. F. B. **Cultivo de Cogumelos Comestíveis**. São Paulo: Ícone, 1999.

DONINI, L. P.; BERNARDI, E.; MINOTTO, E.; NASCIMENTO, J. S. Desenvolvimento *in vitro* de *Pleurotus* spp. sob a influência de diferentes substratos e dextrose. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.72, p.331-338, 2005.

EIRA, A. F. Fungos Comestíveis. In: AZEVEDO, J. L.; ESPOSITO, E. **Fungos: uma introdução à biologia, bioquímica e biotecnologia**. Caxias do Sul: Educs, 2004. p. 379-448.

FURLANI, R. P. Z.; GODOY, H. T. Valor nutricional de cogumelos comestíveis. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, n. 1, p. 154-157, 2007.

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**, 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**, v. 75, n.1, p. 29-36, 2008.

MINOTTO, E. **Aproveitamento de resíduo de curtume no cultivo de cogumelo comestível *Pleurotus ostreatus***. 2007. 60 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Ciências Biológicas)- Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2007.

MOTATO, R.; MEJÍA, I. A.; LEÓN, A. Evaluación de los residuos agroindustriales de plátano (*Musa paradisiaca*) y aserrín de abarco (*Cariniana piriformes*) como sustratos para el cultivo del hongo *Pleurotus djamor*. **Vitae**, v.13, n.1, p.24-29, 2006.

PANDEY, A.; SOCCOL, C. A.; NIGAM, P.; BRAND, D.; MOHAN, R.; ROUSSOS, S. Biotechnological potential of coffee pulp and coffee husk for bioprocesses. **Biochemical Engineering Journal**, v. 6, n. 2, p. 153-162, 2000.

SANTOS, V.M.C.S.; CASSOU, R.; GERN, R.M.M.; MENDONÇA, M.M.; FURLAN, S. A. Estudo da fração de inóculo e da suplementação de palha de bananeira para a produção de *Pleurotus sajor-caju*. **Revista Saúde e Meio Ambiente**, v.1, n.1, p. 64-67, 2000.

SOFFNER, M. L. A. P. **Produção de polpa celulósica a partir de engaço de bananeira**. 2006. 56f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2006.

STURION, G. L. **Utilização da folha da bananeira como substrato para o cultivo cogumelo (*Pleurotus spp.*)**. 1994. 147f. Dissertação (Mestrado em Ciências/ Ciência e tecnologia de alimentos), Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1994.