

## Notas Científicas

### Crescimento micelial de *Pleurotus ostreatus* em resíduo de *Simarouba amara*

Ceci Sales-Campos<sup>(1)</sup>, Augusto Ferreira da Eira<sup>(2)</sup>, Maria Aparecida de Jesus<sup>(1)</sup>, Francielli Campagnoli<sup>(1)</sup> e Meire Cristina Nogueira de Andrade<sup>(1)</sup>

<sup>(1)</sup>Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Coordenação de Pesquisas de Produtos Florestais, Caixa Postal 478, CEP 69060-001 Manaus, AM. E-mail: ceci@inpa.gov.br, ranna@inpa.gov.br, camp\_fran@hotmail.com, meire@inpa.gov.br <sup>(2)</sup>Universidade Estadual Paulista, Departamento de Produção Vegetal, Caixa Postal 237, CEP 18610-307 Botucatu, SP. E-mail: augustoeira@fungibras.com.br

Resumo – O objetivo deste trabalho foi avaliar o crescimento micelial do cogumelo *Pleurotus ostreatus*, cultivado na serragem da espécie madeireira *Simarouba amara*. Avaliaram-se: o efeito das temperaturas de 22, 25, 27, 30 e 35°C sobre o crescimento micelial de *P. ostreatus*, nos meios malte-ágar 3% e SDA-MA (infusão da serragem de *S. amara*, enriquecida com farelo de soja-dextrose-ágar); e o crescimento micelial em substrato de cultivo de serragem de *S. amara*, com e sem suplementação de farelo de soja, a 25 e 30°C. O melhor desenvolvimento de *P. ostreatus* ocorreu em meio malte-ágar 3% a 25°C. A suplementação de farelo de soja na serragem de *S. amara* favorece o crescimento micelial.

Termos para indexação: cogumelos comestíveis, cogumelo hiratake, crescimento micelial, serragem.

#### **Mycelial growth of *Pleurotus ostreatus* in *Simarouba amara* sawdust**

Abstract – The objective of this work was to assess the mycelial growth of oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) cultivated in sawdust of *Simarouba amara*. Evaluations were made for the effect of temperatures 22, 25, 27, 30 and 35°C on the mycelial growth of *P. ostreatus* in 3% malt-agar and SDA-MA (infusion of *S. amara* sawdust, enriched with soybean meal-dextrose-agar) media; and the mycelial growth in cultivation substrate of *S. amara* sawdust, with and without supplementation of soybean meal, at 25 and 30°C. The best development of *P. ostreatus* was in 3% malt-agar medium at 25°C. Soybean meal supplementation on *S. amara* sawdust promoted mycelial growth.

Index terms: edible fungi, hiratake mushroom, mycelial growth, sawing.

Os resíduos gerados pela indústria madeireira, na Região Amazônica, têm causado poluição do meio ambiente, porém as indústrias madeireiras têm buscado soluções para o aproveitamento dos rejeitos (Sales-Campos et al., 2000).

A importância do cultivo de cogumelos é significativa, por representar alternativa eficiente para se viabilizar o aproveitamento desses resíduos. Os *Pleurotus* spp. são fungos degradadores de madeira e formam o grupo denominado fungos de podridão-branca (Maziero, 1990). De acordo com Nyochembeng et al. (2008), a utilização de fungos para a reciclagem de resíduos sólidos é vantajosa, uma vez que esses cogumelos comestíveis são produzidos a partir de um subproduto.

O cultivo comercial do fungo comestível *P. ostreatus* pode representar uma alternativa economicamente viável, com potencial de inserção no modelo industrial madeireiro regional, como também na pequena

propriedade rural familiar. Torna-se, portanto, necessária a adaptação da tecnologia de produção às condições regionais de clima e de disponibilidade de resíduos.

Nas técnicas de cultivo são utilizados vários meios de cultura, para obtenção da matriz primária, para o cultivo de fungos comestíveis (Bononi et al., 1999). Todavia, há a necessidade de se avaliarem os melhores meios de cultura para os isolados, que não sejam divergentes das condições de cultivo em substrato (Andrade et al., 2008).

O objetivo deste trabalho foi avaliar a cinética micelial do fungo *P. ostreatus*, cultivado na serragem da espécie madeireira *Simarouba amara*, para se determinar a condição ótima de crescimento micelial.

Os experimentos foram conduzidos no Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (Inpa), Coordenação de Pesquisas em Produtos Florestais, de abril a dezembro de 2005.

A preparação da matriz primária foi realizada a partir do isolado de *P. ostreatus*, depositado no Laboratório de Patologia da Madeira, Inpa. A multiplicação do isolado fúngico foi realizada por meio de fragmentos do micélio, cultivados em meio de cultura à base de malte-ágar 3% para meio BDA, conforme Bononi et al. (1999).

Para se avaliar a influência da temperatura no crescimento micelial de *P. ostreatus*, em meios de cultura (experimento 1), foram preparadas placas de Petri com malte-ágar 3% (Bononi et al., 1999) e SDA-MA (infusão da serragem de *S. amara* – Marupá, enriquecida com farelo de soja-dextrose-ágar). No preparo do meio SDA-MA, utilizaram-se, em base seca, 100 g de composto por litro final de infusão, preparado com 90% de serragem, 8% de farelo de soja e 2% de CaCO<sub>3</sub> (adaptado de Andrade et al., 2007). Após o preparo, o composto foi submetido à fervura em 1,5 L de água durante 30 min. Em seguida, a infusão foi filtrada em algodão, e seu volume foi completado para 1 L, tendo sido adicionados ao meio 12 g de dextrose e 15 g de ágar por litro. Ambos os meios foram autoclavados por 45 min, a 121°C e 1 atm de pressão.

Após o preparo e solidificação dos meios de cultura, em placas de Petri, a avaliação do crescimento micelial radial foi conduzida conforme Maziero (1990). Para isso, as placas de Petri com os meios de cultura receberam discos de 9 mm de inóculo, em condições assépticas. A mensuração do crescimento micelial radial foram realizadas a cada 24 horas, durante 20 dias, e foram traçadas, na tampa de cada placa, duas retas perpendiculares. A média das duas medições foi registrada para cada leitura. O diâmetro total da colônia foi calculado em razão do crescimento micelial final, obtido com a colonização do fungo na placa. O experimento foi conduzido em incubadora convencional a 22, 25, 27, 30 e 35°C, sem luz. O delineamento experimental foi inteiramente ao acaso, em esquema fatorial 5x2, com três repetições por tratamento.

Para se avaliar o crescimento micelial de *P. ostreatus*, em substrato de cultivo de serragem de *S. amara*, sem e com suplementação à base de farelo de soja (experimento 2), adicionou-se CaCO<sub>3</sub> em torno de 3% para ajuste do pH para 6,5. No caso de suplementação com farelo, utilizaram-se 85% de serragem, 12% de farelo e 3% de CaCO<sub>3</sub>. O substrato foi umidificado a 75%, e porções de 25 g foram distribuídas em placas de Petri e autoclavadas a 121°C, por 1 hora. Após o resfriamento, em condições axênicas, o substrato

contido em cada placa foi infectado com a cultura de *P. ostreatus*, crescido em meio SDA-MA, em disco de 9 mm de diâmetro, posicionado no centro da placa, e foi incubado a 25 e 30°C, sem luz. A mensuração foi realizada conforme relatado no primeiro experimento, com intervalos de 48 horas. O delineamento experimental foi inteiramente ao acaso, em esquema fatorial 2x2, com três repetições por tratamento.

As médias foram comparadas pelo teste Tukey, a 5% de probabilidade, com o procedimento ANOVA, do programa Minitab for Windows 1.3.

Houve interação significativa entre os fatores meio e temperatura ( $p < 0,05$ ). O crescimento do *P. ostreatus* foi maior a 25°C, em ambos os meios de cultura testados, e a combinação ótima de fatores ocorreu no meio malte-ágar 3% a 25°C (Tabela 1). Isso ocorreu, provavelmente, em razão de o meio malte-ágar 3% ser mais rico em nutrientes, em comparação ao meio SDA-MA. Andrade et al. (2008), ao avaliar o crescimento micelial de duas linhagens de *Lentinula edodes*, a 25°C, em dez tipos de meio de cultura, verificaram que o meio à base de extrato de serragem de *Eucalyptus citriodora* foi o mais promissor. Donini et al. (2005) avaliaram a velocidade de crescimento micelial de linhagens de *Pleurotus* spp., em diferentes substratos, e observaram diferenças significativas na interação entre linhagens, substratos e dias de avaliação.

Furlan et al. (1997) estudaram fungos que crescem em altas temperaturas, com o uso de diferentes meios de cultura e temperaturas, e observaram que, entre os meios estudados, o TDA (trigo-dextrose-agar) permitiu o melhor crescimento, e o fungo *P. ostreatus* obteve o melhor desempenho entre 20 e 30°C. No presente trabalho, não houve crescimento micelial do fungo a 35°C, nos meios de cultura testados. Resultados semelhantes foram obtidos por Nascimento & Eira (2007), que verificaram que temperaturas de incubação, acima de 35°C, inibiram completamente o crescimento

**Tabela 1.** Crescimento micelial radial de *Pleurotus ostreatus* (mm), nos meios de cultura malte-ágar 3% e SDA-MA (infusão da serragem de *Simarouba amara*, enriquecida com farelo de soja-dextrose-ágar), em diferentes temperaturas, após 20 dias de incubação<sup>(1)</sup>.

Meio de cultura	Temperatura (°C)				
	22	25	27	30	35
Malte-ágar 3%	5,96Ac	15,96Aa	7,27Ab	3,18Ad	0,27Ae
SDA-MA	4,12Bb	10,95Ba	4,60Bb	2,63Ac	0,41Ad

<sup>(1)</sup>Médias seguidas de letras iguais, maiúsculas nas colunas e minúsculas nas linhas, não diferem entre si pelo teste Tukey, a 5% de probabilidade.

micelial de *Diehlmyces microsporus*. Zadrazil (1974), afirmou que, em temperaturas acima de 30°C, há efeito nocivo a *P. ostreatus* e *P. florida*, e aos 40°C o efeito é letal, quando a espécie é exposta por período maior que 24 horas.

Observou-se que o crescimento do *P. ostreatus*, no substrato suplementado com farelo de soja, foi maior quando comparado ao não suplementado, nas temperaturas testadas (Tabela 2), o que evidenciou a importância da suplementação para a serragem. Porém, a serragem suplementada não apresentou crescimento diferenciado entre as temperaturas de 25 e 30°C.

A suplementação em ambas as temperaturas promoveu melhor taxa de crescimento micelial do fungo (Tabela 2). Das & Mukherjee (2007) avaliaram o uso de sete ervas daninhas, no cultivo de *P. ostreatus*, e verificaram que o *Leonotis* sp. foi o melhor substrato para o cultivo do *P. ostreatus*. Wang et al. (2001) verificaram que poucos cogumelos foram formados nos resíduos apenas com grãos de cevada, e que uma alta eficiência biológica foi obtida com a adição de farelo de trigo. No entanto, Baysal et al. (2003) relatam que o excesso de nitrogênio pode limitar o crescimento.

Um rápido crescimento micelial é importante, uma vez que reduz os índices de contaminações. Jonathan et al. (2008) verificaram que uma rápida colonização micelial do *P. tuber-regium*, nos seletivos substratos, tais como resíduos de madeira de *Holoptelia grandis* e *Milicia excelsa*, reduz consideravelmente o crescimento de outros organismos competidores.

A suplementação da serragem de *Simarouba amara* favorece o crescimento micelial e proporciona boa colonização pelo fungo *P. ostreatus*.

**Tabela 2.** Crescimento micelial radial de *Pleurotus ostreatus* (mm), em serragem de *Simarouba amara*, com e sem suplementação de farelo de soja, a 25 e 30°C, após 20 dias de incubação<sup>(1)</sup>.

Substrato de cultivo (serragem)	Temperatura (°C)	
	25	30
Com suplementação	10,12Aa	12,83Aa
Sem suplementação	8,10Ba	7,65Ba

<sup>(1)</sup>Médias seguidas de letras iguais, maiúsculas nas colunas e minúsculas nas linhas, não diferem entre si pelo teste Tukey, a 5% de probabilidade.

## Referências

- ANDRADE, M.C.N. de; CALONEGO, F.W.; MINHONI, M.T. de A.; SEVERO, E.T.D.; KOPYTOWSKI FILHO, J. Avaliação do crescimento micelial de linhagens de shiitake, da produção em toras de eucalipto e de alterações físicas da madeira. *Acta Scientiarum. Agronomy*, v.29, p.23-27, 2007.
- ANDRADE, M.C.N. de; SILVA, J.H. da; MINHONI, M.T. de 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, p.333-337, 2008.
- BAYSAL, E.; PEKER, H.; YALINKILIÇ, M.K.; TEMİZ, A. Cultivation of oyster mushroom on waste paper with some added supplementary materials. *Bioresource Technology*, v.89, p.95-97, 2003.
- BONONI, V.L.; CAPELARI, M.; TRUFEM, S.F.B. **Cultivo de cogumelos comestíveis**. 2.ed. São Paulo: Ícone, 1999. 206p.
- DAS, N.; MUKHERJEE, M. Cultivation of *Pleurotus ostreatus* on weed plants. *Bioresource Technology*, v.98, p.2723-2726, 2007.
- DONINI, L.P.; BERNARDI, E.; MINOTTO, E.; NASCIMENTO, J.S. do. Desenvolvimento in vitro de *Pleurotus* spp. sob a influência de diferentes substratos e dextrose. *Arquivos do Instituto Biológico*, v.72, p.331-338, 2005.
- FURLAN, S.A.; VIRMOND, L.J.; MIERS, D.A.; BONATTI, E.M.; GERN, R.M.M.; JONAS, R. Mushroom strains able to grow at high temperatures and low pH values. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, v.13, p.689-692, 1997.
- JONATHAN, S.G.; FASIDI, I.O.; AJAYI, A.O.; ADEGEYE, O. Biodegradation of Nigerian wood wastes by *Pleurotus tuber-regium* (Fries) Singer. *Bioresource Technology*, v.99, p.807-811, 2008.
- MAZIERO, R. **Substratos alternativos para o cultivo de *Pleurotus* spp.** 1990. 136p. Dissertação (Mestrado) - Universidade de São Paulo, São Paulo.
- NASCIMENTO, J.S. do; EIRA, A.F. da. Isolation and mycelial growth of *Diehlmyces microsporus*: effect of culture medium and incubation temperature. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, v.50, p.587-595, 2007.
- NYOCHEMBENG, L.M.; BEYL, C.A.; PACUMBABA, R.P. Optimizing edible fungal growth and biodegradation of inedible crop residues using various cropping methods. *Bioresource Technology*, v.99, p.5645-5649, 2008.
- SALES-CAMPOS, C.; ABREU, R.L.S.; VIANEZ, B.F. Condições de uso e processamento de madeira nas indústrias madeireiras de Manaus, Amazonas, Brasil. *Acta Amazonica*, v.30, p.319-331, 2000.
- WANG, D.; SAKODA, A.; SUZUKI, M. Biological efficiency and nutritional value of *Pleurotus ostreatus* cultivated on spent beer grain. *Bioresource Technology*, v.78, p.293-300, 2001.
- ZADRAZIL, F. The ecology and industrial production of *Pleurotus ostreatus*, *Pleurotus florida*, *Pleurotus cornucopiae* and *Pleurotus eryngii*. In: INTERNATIONAL SCIENTIFIC CONGRESS ON THE CULTIVATION OF EDIBLE FUNGI, 9., 1974, Tokyo. **Proceedings**. Tokyo: Mushroom Science, 1974. p. 552-621

