



CRESCIMENTO IN VITRO DE BASIDIOMICETOS DO GÊNERO *PLEUROTUS* (AGARICALES) EM SUBSTRATOS PECTOCELULÓSICOS COMO ALTERNATIVA PARA RECILAGEM DE RESÍDUOS DOMÉSTICOS

Rivas, P. M. S.

Pereira - Filho, A. A.; Ribeiro, M. H. M.; Pinto, R. S.

Universidade Federal do Maranhão, Departamento de Biologia - Avenida dos Portugueses, s/n, Campus Universitário do Bacanga, São Luis - MA, Brasil. E - mail: priprisa@gmail.com

INTRODUÇÃO

O aumento progressivo na quantidade de resíduos gerados pela população humana tornou - se um dos principais problemas ambientais. Atualmente cerca de 1 bilhão de toneladas são geradas a cada ano por uma população de 6,2 milhões de habitantes. Este quadro se agrava pela ausência de políticas públicas para a coleta seletiva, reciclagem e reaproveitamento dos resíduos gerados e preservação da integridade dos ecossistemas (Zanin & Mancini, 2004). Pesquisas vêm sendo desenvolvidas a fim de gerar alternativas para a diminuição do volume total dos resíduos devem ser priorizadas para minimizar o efeito negativo da população humana. Dentre eles, destaca - se o processo de bioconversão, que se baseia na transformação de resíduos agroindustriais ou domésticos em produtos de valor agregado (Pelizer *et al.*, , 2007). O papel ecológico desempenhado pelos fungos é imprescindível para a decomposição da matéria orgânica dos ecossistemas, por isso a utilização de cogumelos comestíveis em processos de bioconversão é altamente viável. Em vista disso, o cultivo de cogumelos comestíveis, como os pertencentes ao gênero *Pleurotus*, pode ser uma alternativa sustentável e economicamente rentável para a reciclagem do lixo urbano doméstico (como cascas de frutas, borra de café etc.), pois assim, cogumelos de alto valor nutricional são obtidos a partir de matéria orgânica inutilizada (Sturion & Ranzani, 2000).

O cultivo de *Pleurotus* é bastante viável no Brasil devido à facilidade de manejo e produção, à alta resistência a pragas, ao crescimento rápido em condições ambientais naturais (umidade e temperatura elevadas) (Bononi *et al.*, , 1995). O consumo de cogumelos comestíveis no Brasil é de cerca de 30g por habitante, valor muito baixo quando comparado ao de países como a França, que chega a 2 kg por pessoa (EMBRAPA, 2005). Isso se deve à falta de hábito na utilização de cogumelos na dieta dos brasileiros.

Entretanto, cogumelos do gênero *Pleurotus* são muito apreciados no mercado internacional. Com sabor semelhante ao

da ostra e com excelente valor nutricional, estes cogumelos são considerados de primeira classe no meio gastronômico, principalmente na culinária oriental (Furlani *et al.*, , 2007). Além disso, *Pleurotus* tem demonstrado exercer funções antimicrobianas, antimitogênicas, antiproliferativas, antitumorais (Ngai & Ng, 2004), assim como atividades de modulação do sistema imunológico, diminuição da pressão arterial e do colesterol sanguíneo (Gunde - Cirmerman, 1999) e atua na regulação do envelhecimento devido a propriedades antioxidantes (Yan *et al.*, , 2002).

Vários trabalhos já foram realizados relacionando o crescimento de basidiomicetos do gênero *Pleurotus* em substratos de natureza lignocelulósica, tais como madeira, palha de feijão, bagaço de cana - de - açúcar entre outros (Dias *et al.*, , 2003; Tisdale *et al.*, , 2006). Poucos trabalhos relatam o uso de substratos pectoceleulósicos, como casca, polpas e bagaços de frutas, no cultivo de cogumelos comestíveis (Vieira *et al.*, , 2007).

OBJETIVOS

Avaliar o crescimento de basidiomicetos do gênero *Pleurotus* em distintos substratos de natureza pectoceleulósica, como alternativa para a reciclagem de resíduos domésticos orgânicos.

MATERIAL E MÉTODOS

Esterilização e preparo dos substratos

As cascas das frutas: abacaxi, banana e maracujá foram secadas ao sol durante dois dias. As placas de Petri foram esterilizadas em autoclave, à pressão de 1 atm, à 120°C durante uma hora. Os substratos secos (serragem, cascas de abacaxi, banana e maracujá) foram mergulhados em água destilada durante vinte minutos e posteriormente distribuídos nas placas de Petri. Nos grupos com substrato de casca

de abacaxi (A) e banana (B) colocaram - se $16 \pm 0,25$ gramas de respectivas cascas úmidas nas Placas de Petri, nas placas com substrato de casca de maracujá (M), pesaram - se $20 \pm 0,05$ gramas, enquanto que o substrato de serragem (S) recebeu $14 \pm 0,03$ gramas. O conjunto (Placa de Petri-substrato) foi esterilizado, novamente, em autoclave durante 3 horas a uma temperatura aproximada de 120°C , para garantir a ausência de microorganismos que pudessem contaminar a cultura de *Pleurotus* e prejudicar seu o crescimento.

Inoculação, armazenamento e coleta dos dados

Os inóculos com circunferência de aproximadamente 10 mm foram retirados de uma cultura estabelecida de *Pleurotus*, fornecida pelo Laboratório de Micologia da Universidade de Maringá - PR e colocados nos substratos úmidos já esterilizados. As Placas de Petri foram revestidas com papel filtro para evitar contaminação durante a fixação do inóculo no substrato. Raios convergentes foram marcados com pincel atômico, tomando como ponto central o local onde o inóculo foi colocado. Após a inoculação, os substratos foram armazenados em caixa de isopor. O experimento teve duração de 20 dias e as amostras eram retiradas somente para a coleta dos dados, que ocorria três vezes por semana. A temperatura e umidade foram monitoradas com um termo - higrômetro, que se localizava no interior da caixa de isopor. As medidas dos raios de crescimento foram monitoradas três vezes por semana com uma régua de 0,1mm de precisão. As variáveis monitoradas foram: raio de crescimento micelial (cm), umidade relativa (%) e temperatura ($^{\circ}\text{C}$).

Perda de matéria orgânica dos substratos

Para obter valores para a perda de matéria orgânica dos substratos pesou - se a quantidade de substrato seco colocada em cada placa de Petri antes e após a colonização do fungo. Para calcular este parâmetro (expresso em porcentagem) foi utilizada a fórmula: $\text{PMO} (\%) = (\text{Pi} - \text{Pf}) / \text{Pi} \times 100$, onde: Pi = peso do substrato seco (in natura) e Pf = peso seco do substrato após colonização.

Análise Estatística

Os dados obtidos foram processados a fim de obter a média de crescimento radial (cm), a temperatura ($^{\circ}\text{C}$) e umidade relativa (%) com erro padrão. Os resultados foram submetidos ao teste não - paramétrico de Kruskal - Wallis, que analisa a variância média dos postos e determina se há ou não diferença significativa entre eles ($p < 0,05$).

RESULTADOS

Ao final do experimento, o crescimento radial de *Pleurotus* no substrato da serragem foi de $1,51 \pm 0,14$ cm. Este valor, quando comparado aos substratos de banana e maracujá, foi pequeno. O substrato da serragem foi o controle, pois *Pleurotus* é um fungo lignolítico que habita naturalmente troncos de árvores e resíduos vegetais em florestas tropicais úmidas. A lignina e a celulose são os principais componentes do caule de vegetais superiores e a degradação desses polissacarídeos é um processo muito lento já que envolve a síntese de duas enzimas: a lignina - peroxidase e a peroxidase - manganês dependente (TAIZ & ZEIGER, 2004). Por isso, o crescimento médio radial de *Pleurotus* no substrato de serragem foi menor quando comparado aos de cascas de frutas.

Nos últimos dias de monitoramento do crescimento, houve uma diminuição na média de crescimento radial de *Pleurotus* no substrato de serragem. Devido a que a lignina não pode ser a única fonte energética para os fungos lignolíticos, nos troncos de árvores a degradação da lignina é realizada para facilitar o acesso do fungo aos demais polissacarídeos existentes nas estruturas vegetais (principalmente dos tecidos de condução), na serragem estes polissacarídeos não estão presentes, o que possivelmente contribuiu para a diminuição do crescimento de *Pleurotus* nas últimas semanas (Tuomela *et al.*, , 2000). Além do mais, o substrato de serragem apresentou a segunda menor perda de matéria orgânica, cerca de $39,790 \pm 4,471\%$ de sua massa foi perdida após a colonização pelo fungo. Estes dados comprovam as afirmações anteriores, uma vez que as enzimas específicas para a quebra da lignina degradaram este polissacarídeo presente na madeira e seus derivados.

No substrato da banana *Pleurotus* apresentou maior média de crescimento radial desde o início até o fim do experimento. Foi possível observar que a média final dos raios de crescimento no substrato de casca de banana foram maiores que a média final dos demais substratos (13.7 vezes maior que a do abacaxi, 1.5 vezes maior que a do maracujá, 3.0 vezes maior que a da serragem e 28.4 vezes maior que a do papelão), alcançando raio micelial de $4,55 \pm 0,05$ cm ao fim do experimento. Os valores do crescimento foram significativamente maiores que os obtidos nos substratos da serragem, abacaxi ($p < 0.01$) e maracujá ($p < 0.05$). A literatura relata que dissacarídeos como maltose, frutose e sacarose, podem ser incorporados pelo fungo na forma intacta ou podem ser inicialmente hidrolizados para posterior absorção. Sendo assim, a síntese de enzimas mais complexas para degradação de macromoléculas é reprimida e a energia obtida na respiração celular é utilizada para crescimento e desenvolvimento. Cabe ressaltar que o substrato de casca de banana obteve a menor perda de matéria orgânica após a colonização pelo fungo, somente $19,37 \pm 8,59\%$ de sua massa. Por isso, acredita - se que o rápido crescimento de *Pleurotus* neste substrato deve - se, principalmente, à fácil absorção de nutrientes que composição a casca desta fruta (GONDIM *et. al*, 2005). A presença de carboidratos e proteínas, e de micronutrientes como: potássio e zinco, que em pequenas quantidades, são extremamente benéficos para o metabolismo energético dos fungos (Babich & Stotzky, 1978).

O substrato de casca de maracujá também demonstrou ser eficiente para o crescimento de *Pleurotus* em relação ao substrato de casca de abacaxi ($p < 0.05$), com média final de crescimento radial de $2,92 \pm 0,48$ cm. O substrato de casca de maracujá possui composição química semelhante a da banana, com menor teor de zinco e potássio (Gondim *et al.*, , 2005). Estes micronutrientes atuam compondo ou ativando enzimas essenciais para o crescimento fúngico (PUTZKE & LOPES - PUTZKE, 2002). A menor disponibilidade destes íons no substrato de casca de maracujá não favoreceu o crescimento de *Pleurotus* no mesmo. A perda de matéria orgânica deste substrato foi significativamente menor ($p < 0.05$) do que a observada no substrato da serragem, cerca de $18,54 \pm 0,72 \%$ de sua massa foi perdida após a colonização por *Pleurotus*, demonstrando que a maioria dos

nutrientes utilizados para o crescimento foram obtidos da absorção direta de micronutrientes ou dissacarídeos e não da lise de polímeros, que requer a síntese de várias enzimas.

Já o substrato de casca de abacaxi apresentou média de crescimento significativamente menor que a dos substratos de maracujá ($p < 0.05$) e de banana ($p < 0.01$) de aproximadamente $0,33 \pm 0,18$ cm. Sabe-se que o pH afeta o crescimento de fungos, e estudos recentes demonstram que quanto maior a acidez de um substrato, menor é o crescimento de Basidiomicetos no mesmo (Moreira Neto *et al.*, 007; Montarroyos *et al.*, 2007). O baixo pH do abacaxi tanto do cilindro central como da casca (Botelho *et al.*, 2002) pode ter sido o responsável pelo baixo crescimento de *Pleurotus* neste substrato.

A temperatura e a umidade afetam o crescimento dos fungos, por isso ambas variáveis foram monitoradas. Estes parâmetros não influenciaram o padrão de crescimento dos macrofungos do gênero *Pleurotus* nos substratos, já que a temperatura média foi de aproximadamente $28,3 \pm 0,16^{\circ}\text{C}$ e a umidade relativa foi cerca de $92,2 \pm 0,14\%$, ou seja, os fungos foram mantidos em condições ideais para seu crescimento ao longo de todo o experimento e as variações nestes parâmetros foram praticamente nulas.

CONCLUSÃO

Com base nos dados apresentados, é possível concluir que o crescimento de *Pleurotus* é bastante eficiente em substratos pectocelulósicos de casca de banana e maracujá, mesmo quando comparados aos lignocelulósicos (serragem e papelão). Além disso, os substratos de casca de fruta demonstram ter menor perda de matéria orgânica, mostrando que o rápido crescimento de cogumelos comestíveis do gênero *Pleurotus* neste tipo de substratos deve-se a componentes nutricionais das cascas das frutas. Isso evidencia a relevância deste trabalho, pois através do processo de bioconversão, cogumelos comestíveis, podem ser produzidos de forma rápida e eficiente a partir da utilização de restos alimentares (como cascas de banana e maracujá). Além de ser uma alternativa para reciclagem do lixo urbano doméstico, o cultivo de cogumelos comestíveis é uma atividade rentável que pode ser uma fonte de renda para famílias com baixo poder aquisitivo.

REFERÊNCIAS

Babich, H. & Stotzky, G. Toxicity of Zinc to fungi, bacteria and coliphages: Influence of chloride ions. *Applied and Environmental Microbiology*, 36 (6): 906 - 914, 1978.

Bononi, V.L.R.; Capelari, M.; Maziero, R. & Trufem, S.F.B. *Cultivo de cogumelos comestíveis*. Ícone, São Paulo, 1995.

Botelho, L.; Conceição, A. & Carvalho, V. D. Caracterização de fibras alimentares da casca e cilindro central do abacaxi "Smooth cayenne". *Ciênc. agrotec.*, 26 (2): 362 - 367, 2002.

Dias, E. S.; Koshikumo, E. M. S.; Schwan, R. F.; Silva, R. Cultivo do cogumelo *Pleurotus sajor - caju* em diferentes resíduos agrícolas. *Ciênc. agrotec.* 27 (6): 1363 - 1369, 2003.

Embrapa. *Cogumelos comestíveis e medicinais. serão tema de exposição da Embrapa em feira botânica*. Brasília: 2005. Disponível em: <<http://www.portaldoaagronegocio.com.br>>. Acessado em: 07 de outubro de 2008.

Furlani, R.P.Z & Godoy, H.T. Valor nutricional de cogumelos comestíveis. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, 27 (1): 154 - 157, 2007.

Gondim, J.A.M.; Moura, M.F.V.; Dantas, A.S.; Medeiros, R.L.S. & Santos, K.M. Composição centesimal e de minerais em cascas de frutas. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, 25 (4): 825 - 827, 2005.

Gunde - Cimerman, N. Medicinal value of genus *Pleurotus* (Fr.) P. Karst. (Agaricales s.l., Basidiomycetes). *International Journal of Medicinal Mushrooms*, 1: 69 - 80, 1999.

Montarroyos, A.V.V.; Coelho, R.S.B.; Ferraz, G. de M.G.; Santos, R.; Dos Santos, V.F.; Andrade, P.P. Efeitos de meio de cultura, fontes de carbono e nitrogênio, pH e regime luminoso no crescimento de *Mycosphaerella musicola*. *Summa Phytopathologica*, 33 (1): 86 - 89, 2007.

Pelizer, L.H; Pontieri, M.H. & Moraes, I.O. Utilização de resíduos agro - industriais em processos biotecnológicos como perspectiva de redução do impacto ambiental. *J. Technol. Manag. Innov.*, 2(1): 118 - 127, 2007.

Ngai, P.H.K. & Ng, T.B. A ribonuclease with antimicrobial, antimutagenic and antiproliferative activities from the edible mushroom *Pleurotus sajor - caju*. *Peptides*. 25: 1055 - 1073, 2004.

Putzke, J. & Lopes - Putzke, M. T. *Os reinos dos fungos*. Vol 2. EDUNISC, Santa Cruz do Sul, 2002.

Sturion, G.L. & Ranzani, M.R.T.C. Composição em minerais de cogumelos comestíveis cultivados no Brasil- *Pleurotus* ssp. outras espécies desidratadas. *Alan*. 50 (1), 2000.

Taiz, L. & Zeiger, E. *Fisiologia Vegetal*. 3ª. Edição. Artmed, Porto Alegre, 2004.

Tisidale, T. E.; Miyasaka, S.C.; Hemmes, D. E. Cultivation of the oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) in wood substrates in Hawaii. *World Journal of Microbiology & biotechnology*. 22: 221 - 206, 2006.

Tuomela, M.; Vikman, M.; Hatakka, A.; Itävaara, M. Biodegradation of lignin in a compost environment: a review. *Bioresource Technology*. 72: 169-183, 2000.

Yan, J.H.; Lin, H.C. & Mau, J.L. Antioxidant properties of several commercial mushrooms. *Food Chemistry*, 77: 229 - 235, 2002.

Zanin, M. & Mancini, S.D. *Resíduos Plásticos e Reciclagem*. EdUFSCar, São Carlos, 2004.