

## Influência da luz na produção do cogumelo hiboukitake em bagaço de uva

RETTORE, Vanderleia \*; GIOVANNI, Rodrigo Nogueira \*\*; PAZ, Marcelo Fossa da \*\*\*

### Resumo

A busca de novos substratos para o cultivo de cogumelos e o aproveitamento de resíduos agroindustriais levaram ao desenvolvimento do cultivo de Hiboukitake (*Pleurotus sajor-caju*) por fermentação em estado sólido em bagaço de uva Isabel proveniente da indústria de sucos e vinhos. Nesse contexto teve-se como objetivo o estabelecimento das condições de cultivo nesse substrato avaliando-se a influência da luz sobre o inoculante e sobre o sistema de cultivo em sacos. Foram avaliadas diferentes condições de iluminação, sendo quatro tratamentos resultantes da combinação das condições de iluminação e escuro entre o inoculante e o saco de cultivo. Os resultados demonstraram uma tendência ao aumento do rendimento biológico para os sacos cultivados em ausência de luz cujo inoculante esteve exposto à iluminação. Os cultivos conduzidos com iluminação frutificaram precocemente com perda no rendimento e sem a total miceliação do substrato. O cultivo do cogumelo *Pleurotus sajor-caju* é bastante viável no bagaço da uva Isabel e pode ser uma ótima alternativa para o aproveitamento dos resíduos da indústria de sucos e vinhos sendo a luz um fator determinante no rendimento dos cogumelos. Palavras-chave: *Pleurotus sajor-caju*. Produtividade. Cogumelos Ostra.

### *Light influence on mushroom hiboukitake production on grape marc*

#### *Abstract*

*Searching for new organic source for Hiboukitake (Pleurotus sajor-caju) cultivation led to the development of a new cultivation, based on solid-state fermentation process, with uses Isabel grape marc from winery and juice industry. In this context, was analyzed the conditions were set in a way that the light influence over spawn and cultivation bags. The experiments was conducted submitting the spawn and cultivation bag to light exposition and light, privation resulting in four different combinations of light and darkness resulting in four treatments. The experiments showed a relevant biological yield for the cultivation bags under darkness and the spawn subjected to light exposure. Cultivation under light exposition fructified prematurely by a yield decrease and incomplete substrate colonization. The work has proven the Isabel Grape marc mushroom cultivation viability allied to industrial remains reutilization only taking in consideration light conditions measures.*

*Keywords: Pleurotus sajor-caju. Productivity. Oyster mushroom*

\*Vanderleia Rettore - Bacharel em Biotecnologia Industrial pela Unoesc, Videira - SC. E-mail: vande.reto@gmail.com

\*\* Rodrigo Nogueira Giovanni - Unoesc, Videira - SC. Eng. Agrônomo, mestre em Ciências dos Alimentos pela Universidade Federal de Santa Catarina. E-mail: rodrigo.giovanni@unoesc.edu.br

\*\*\* Marcelo Fossa da Paz - Universidade Federal da Grande Dourados, UFGD - Dourados - MS. Biólogo, doutor em Agronomia pela ESALQ e mestre em Biotecnologia pela USP. Tel.: (67) 3410-2194. E-mail: mfpaz9@gmail.com

## 1 INTRODUÇÃO

*Pleurotus* sp., comumente conhecidos por “cogumelos ostra”, estão na terceira colocação em produção comercial no mundo. São decompositores primários de madeira e resíduos vegetais (OBODAI *et al.*, 2003), portanto, seu substrato natural é composto por 50 a 60% de celulose, 10 a 30% de hemicelulose e 20 a 30% de lignina (URBEN, 2004). Estas espécies são naturalmente encontradas em florestas úmidas tropicais e subtropicais e podem ser cultivadas artificialmente (BONATTI, 2004; URBEN, 2004). As espécies do gênero *Pleurotus* têm sido cultivadas em muitos resíduos. Zanetti e Ranal (1997) já citavam um artigo de 1990 que afirmava que já existiam mais de 30 resíduos animais e vegetais utilizados no cultivo desses cogumelos. Recentemente, alguns autores têm citado resíduos com alta relação C/N como a serragem de casca de coco para cultivo de diferentes espécies de cogumelos como *Pleurotus* (PEDRA; MARINO, 2006, MARINO *et al.*, 2008) e *Lentinula edodes* (MARINO; ABREU, 2009). Segundo Zanetti e Ranal (1997), vários autores citam a adição de sais de amônia, nitratos e ureia como fontes inorgânicas de N, uma vez que, o C e o N desempenham papel fundamental no metabolismo dessas espécies. Urben (2004) cita que para o bom desenvolvimento dos basidiocarpos a relação mínima de C:N deve ser de 29:1, sendo que o excesso de N inibe a degradação de lignina. Os substratos utilizados são corrigidos artificialmente para favorecer o desempenho do cultivo, os valores de pH devem estar entre 6,0 e 7,0 e a umidade entre 70 e 75%. Para o bagaço de uva, cita-se uma relação C:N entre 20 e 25, mas Ferrer *et al.* (2001) determinaram, em seu trabalho, uma relação de 26,94, o que aproxima um pouco dos valores mínimos necessários para o cultivo de cogumelos do gênero *Pleurotus* citados por Urben (2004).

Urben (2004) coloca uma tabela de eficiência biológica (EB) de diferentes resíduos e destaca a palha de trigo acrescida de 1% de cal como a de maior eficiência, biológica, aproximadamente 177,5%.

Além do tipo de composição do substrato, o teor de água, pH e mesmo as condições do ambiente como temperatura e luz, interferem no desenvolvimento e na eficiência do micélio em transformar o substrato em matéria orgânica comestível (ZANETTI; RANAL, 1997). A influência da luz no cultivo de cogumelos comestíveis, principalmente na frutificação é bastante discutida em meios não científicos, em especial entre produtores que, empiricamente utilizam a luz para estimular a frutificação em *Lentinula edodes*, no entanto, Bernardi, Minotto e Nascimento (2008) ao estudarem a influência da luz sobre a espécie de cogumelo *Agaricus brasiliensis* não perceberam nenhuma influência da mesma sobre a miceliação e atribuem as diferenças de crescimento dos micélios apenas à composição do meio e influência de pH. No caso da frutificação de *A. brasiliensis*, não se encontra na literatura nenhuma menção à luz, mas os processos acontecem em câmaras escuras. Também se atribui o estímulo à frutificação à presença de bactérias na camada de cobertura que parece ser essencial para a indução da frutificação dessa espécie, pois as mesmas promovem a remoção de compostos autoinibitórios produzidos pelo próprio fungo, facilitando sua frutificação (RAINEY *et al.*, 1990). No caso de *Pleurotus* sp. não há relatos específicos na literatura científica sobre a influência da luz na frutificação, mas produtores têm utilizado iluminação de 12 horas para induzir a frutificação (BATISTA, 2003).

Os processos Biotecnológicos de cultivo das espécies de *Pleurotus* produzem um alimento de alto valor nutricional a partir de muitos resíduos agroindustriais e, estes, podem ser uma boa fonte de proteína e outras substâncias de interesse como: os minerais Ca, P, Fe, Mg, (SILVA *et al.*, 2002), fibras alimentares solúveis, fibras alimentares insolúveis, beta glucanas, quitina, compostos fenólicos totais (MANZI *et al.*, 2004) e ribonuclease (NGAI; NG, 2004).

Estes cogumelos também têm sido bastante reportados como alimentos com atividade médica em muitas terapias e estas citações indicam as atividades: antitumoral, antiviral, indução de atividade imunológica, e apresentam atividades: antioxidante (YANG *et al.*, 2002) antimicrobiana, antimitogênica e antiproliferativa (NGAI; NG, 2004).

Assim como os cogumelos, a uva também possui propriedades medicinais (MAYDATA, 2002). Desta forma o bagaço pode ser utilizado com vantagem, como matéria-prima para o cultivo dessas espécies, já que além de reduzir o volume desse resíduo (tecnologia limpa), possibilita o aumento nutricional desse resíduo. Isto é possível através da elaboração de uma farinha com o bagaço miceliado após a colheita dos basidiocarpos.

Neste contexto, com o presente trabalho foi desenvolvida a padronização de um protocolo de cultivo para a espécie *Pleurotus sajor-caju* no bagaço da uva (*Vitis labrusca* L.) cultivar Isabel e uma análise prévia da composição da farinha do bagaço miceliado as melhores condições de luz para o desenvolvimento micelial.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

A linhagem de *Pleurotus sajor-caju* (Hikoukitake) utilizada neste estudo foi cedida gentilmente pelo Prof. Dr. Flavio Cesar Almeida Tavares do laboratório de genética de leveduras (ESALQ/USP).

### 2.1 MANUTENÇÃO DA LINHAGEM

O fungo foi mantido em laboratório por sucessivos repiques em meio a Batata Dextrose Agar, Difco - BDA. O preparo do inoculante (“spawn”) deu-se através de metodologia adaptada de Dias e outros (2003), pela completa colonização (20 a 30 dias) em grãos de arroz cozido e autoclavado por 20 minutos a 121 °C, contendo 5% de farelo de trigo.

### 2.2 SUBSTRATO

O substrato usado nesse estudo foi o bagaço de uva resultante da indústria de vinhos do Vale do Rio do Peixe corrigido para o pH 7,0 com NaOH 1 N.

O bagaço não foi suplementado com nenhuma substância para a correção da relação C:N, permanecendo no seu estado inicial.

### 2.3 CULTIVO

O cultivo foi realizado pela técnica Jun-Cao em sacos de autoclave contendo o substrato e um sistema de trocas gasosas (capuchão ou rolha) de gaze e algodão hidrofóbico conforme Paz e outros (2006).

Cada saquinho recebeu uma quantidade de 100g de bagaço de uva Isabel seco e corrigido com umidade de 6% mais 210mL (g) de água destilada, para que a umidade final ficasse em torno de 70%. Esses saquinhos foram autoclavados a 121 °C por 30 minutos e posteriormente inoculados com 20g do “spawn”. Cada saquinho ficou em média com 12 centímetros de substrato.

### 2.4 INFLUÊNCIA DA LUZ

Inicialmente foram realizados testes de tempo de miceliação e indução de frutificação.

Foram preparados dois ambientes, ambos com temperaturas entre 20 e 25 °C e umidade acima de 70%, porém um totalmente escuro e outro com uma janela que permitia a entrada de luz. Neste teste foram medi-

das a velocidade de miceliação, através da colonização micelial medida pela distância que o micélio coloniza a superfície do composto em função do tempo e a medida do tempo de indução à frutificação, que consiste na tomada de tempo necessário para o aparecimento dos primórdios de frutificação. O “spawn” também foi incubado nas condições de escuridão e de luminosidade. Portanto nessas condições, foram realizados quatro tratamentos conforme tabela 1.

Tabela 1 - Tratamentos do experimento de influência da luz no cultivo do *Pleurotus sajor-caju*

Tratamento	Spawn	Cultivo
A	Com iluminação	Sem iluminação
B	Com iluminação	Com iluminação
C	Sem iluminação	Sem iluminação
D	Sem iluminação	Com iluminação

Fonte: Os Autores.

## 2.5 RENDIMENTO E EFICIÊNCIA BIOLÓGICA (EB)

Para os testes de rendimento e eficiência biológica, a miceliação deu-se em quarto escuro com umidade mínima de 70% e temperatura variando de 20 a 25°C, controlada manualmente por um aparelho de ar condicionado. A umidade foi mantida por borrifadas de vapor de água sempre que a umidade se mostrava próxima ao limite mínimo de 70%. A escolha da ausência de luz foi resultado do teste de indução de frutificação.

O rendimento dos cogumelos em gramas foi calculado pela relação do peso dos corpos de frutificação (basidiocarpos) pelo peso total do saquinho contendo o bagaço miceliado a 70% de umidade. A Eficiência Biológica (EB), foi calculada seguindo a metodologia descrita por Yildiz e outros (2002), que é a relação dos corpos de frutificação (basidiocarpos) frescos, obtidos de cada saquinho de cultivo, pela quantidade de bagaço seco utilizada em cada saquinho.

Os resultados foram analisados estatisticamente com base no teste de Tukey com significância de 95%.

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os experimentos de miceliação e indução à frutificação demonstraram que, na ausência de luz, a completa miceliação do substrato ocorre normalmente em um período médio de 35 dias, variando de 30 a 40 dias, quando então, aparecem os primórdios de frutificação (“pipocas”). Quando o cultivo se dá na presença de luz, a miceliação cessa em  $20 \pm 1$  dias, quando apenas 50% do substrato está colonizado (6cm da altura do substrato). Isso ocorreu em todos os saquinhos sem variação. Há frutificação precoce com perda de Eficiência Biológica (EB). No tratamento D, onde tanto o “spawn” quanto o saquinho de cultivo foram cultivados em presença de luz, houve uma eficiência biológica média de apenas 47,28% em relação ao tratamento A, cujo “spawn” se desenvolveu em presença de luz e o cultivo em quarto escuro. O tratamento B teve o segundo pior desempenho, com uma eficiência biológica média de 65,74% em relação ao melhor desempenho. No caso do tratamento C, onde ambos, “spawn” e cultivo foram conduzidos sem a presença de luz, houve um desempenho médio de 86,78% em relação ao tratamento A (Tabela 2). Esses resultados sugerem que micélios com pequena exposição à luz na fase de “spawn” apresentaram tendência a aumentarem a eficiência biológica, mas esta afirmação não

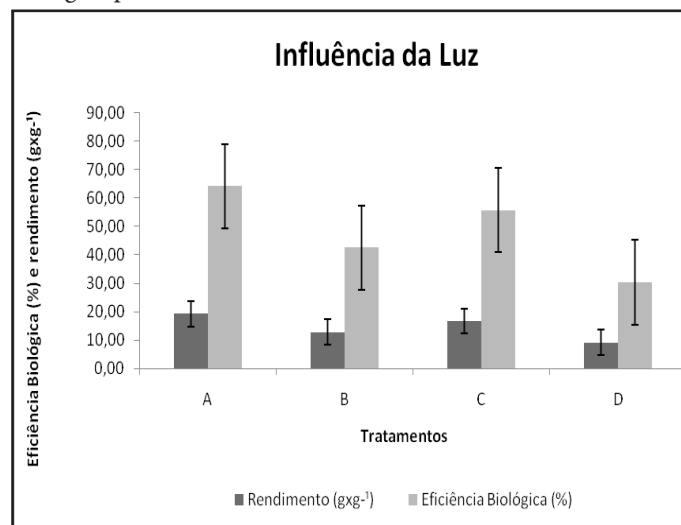
pôde ser comprovada estatisticamente, já que o coeficiente de variação é muito alto, mesmo com um número muito grande de repetições (Tabela 2, Figura 1).

Tabela 2 - Resultados dos experimentos de influência da luz no cultivo do *Pleurotus sajor-caju*

Tratamento	Tempo médio de frutificação (dias)	Miceliação total (%)	Rendimento (g x g <sup>-1</sup> )	Eficiência Biológica (%)	
A	35	100	19,26±7,94	64,21±26,45	A
B	20	50	12,78±3,81	42,61±12,71	B
C	35	100	16,72±7,52	55,72±25,06	AB
D	20	50	9,11±6,37	30,36±21,23	B

Fonte: Os Autores.

Figura 1 - Influência da luz no Rendimento e na Eficiência Biológica para os tratamentos



Fonte: Os Autores.

É possível que essa variação seja consequência da natureza da espécie, já que não se podem controlar os locais onde aparecem os primórdios de frutificação no substrato. Desta forma, obtém-se em um único tratamento uma gama muito grande de variações no formato, número e, principalmente tamanho dos cogumelos. É comum observarmos fusão entre corpos de frutificação que surgem lado a lado, prejudicando o desenvolvimento de ambos.

Apesar da grande variação e pequena confiança estatística, também verificada em outros estudos conduzidos com espécies do mesmo gênero (SÁNCHEZ et al., 2002), as diferenças entre médias é bastante conclusiva, no que tange à influência da luz no desenvolvimento dessas espécies, sendo a comparação entre estas, bastante pertinente e esclarecedora quanto à estratégia de cultivo a ser adotada. Realmente a influência da luz é bastante decisiva no cultivo de cogumelos. Para se ter uma ideia, em *Pleurotus ostreatus* há até variação da composição dos aminoácidos apesar de não ter ocorrido variação no percentual protéico (SAVÓN et al., 2003).

Zanetti e Ranal (1997) reportaram um menor tempo de miceliação sob luz contínua, o que confirma parcialmente nossa constatação de que a exposição do “spawn” à luz estimula a miceliação, porém os mesmos autores notaram uma inibição da miceliação nos tratamentos mantidos no escuro, e atribuíram esse comportamento à superexposição da sua linhagem à luz, o que poderia ter resultado em um processo de seleção. Na

presente pesquisa confirmaram-se os estudos de Martínez-Carrera e outros (1985), Guzmán-Dávalos e outros (1987) e Laborde (1989). Estes estudos sugerem a utilização de recipientes pretos para acelerar o desenvolvimento micelial e aumentar a produção de cogumelos, seguindo a lógica do que ocorre na natureza com os fungos decompositores e parasitas, pois estes penetram no substrato, colonizando-o numa condição de ausência de luminosidade e, somente por ocasião da formação da estrutura reprodutiva, é que ocorre a exposição do fungo à luz (ZANETTI; RANAL, 1997). Isso é totalmente plausível e realmente se confirma no presente estudo, já que a exposição à luz estimulou a frutificação precoce e, por isso, uma menor eficiência biológica.

Em resumo, pode-se dizer que durante a fase de preparo de “spawn” a exposição à luz tende a ser benéfica, mas durante o cultivo, é imprescindível que seja conduzida em local desprovido de luz, para que não haja frutificação precoce, o que reduz a eficiência biológica, além de deixar exposto o substrato, o que favorece a contaminação por outros fungos, quando da abertura dos saquinhos.

#### 4 CONCLUSÕES

A luz é fator determinante no rendimento dos cogumelos, já que a exposição à luz estimula a frutificação. Já a ausência de luz durante o cultivo é necessária para que não haja frutificação precoce e substrato não colonizado.

A padronização do cultivo em bagaço de uva permitiu uma boa eficiência biológica e possibilitará o aproveitamento do substrato miceliado, o que normalmente não ocorre com qualquer substrato.

#### Agradecimentos

À Unoesc pelo financiamento das pesquisas. Ao professor Dr. Flavio César Almeida Tavares, pela cessão da linhagem para os estudos. À COOPERVIL pela cessão dos bagaços da uva Isabel. À FAPESC pelo apoio financeiro.

#### REFERÊNCIAS

- BATISTA, J.G.F. **Cultura de Cogumelos:** Cultura de *Pleurotus ostreatus* para principiantes. Disponível em: <<http://www.angra.uac.pt/pessoais/docentes/jbatista/cogumelos/Pleurotus.pdf>>. Acesso em: 05 mai, 2012.
- 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, p. 425–428, 2004.
- DIAS, E.S.; KOSHIKUMO, E.M. S.; SCHWAN, R.F.; SILVA, R. Cultivo do cogumelo *Pleurotus sajor-caju* em diferentes resíduos agrícolas. **Ciências agrotécnicas**, v.27, n.6, p.1363-1369, 2003.
- FERRER, J.; PAEZ, G.; MÁRMOL, Z.; RAMONES, E.; CHANDLER, C.; MARÍN, M.; FERRER A. Agronomic use of biotechnologically processed grape wastes. **Bioresource Technology**, v.76, p. 39-44, 2001.
- GUZMÁN-DÁVALOS, L.; MARTÍNEZ-CARRERA, O.; MORALES, P.; SOTO, C. El cultivo de hongos comestibles (*Pleurotus*) sobre el bagazo del maguey de la industria tequilera. **Revista Mexicana de Micología**, v.3, p.47-49, 1987.
- LABORDE, J. Technologie moderne de production des Pleurotes. **Mushroom Science**, v.12, Part II, p.135-155, 1989.

- MANZI, P.; MARCONI, S.; AGUZZI, A.; PIZZOFERRATO L. Commercial mushrooms: nutritional quality and effect of cooking. **Food Chemistry**, v. 84, p. 201–206, 2004.
- MARINO, R.H. E ABREU L.D. de Cultivo do cogumelo Shiitake em resíduo de coco suplementado com farelo de trigo e/ou arroz. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v.4, n.11, p. 11-16, 2009.
- MARINO, R. H.; ABREU, L.D. DE; 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.
- MARTÍNEZ-CARRERA, D.; SOTO, C.; GUZMÁN, G. Cultivo de *Pleurotus ostreatus* en pulpa de café con paja como substrato. **Revista Mexicana de Micología**, v.1, p.101-108, 1985.
- NGAI, P.H.K.; NG, T.B. A ribonuclease with antimicrobial, antimitogenic and antiproliferative activities from the edible mushroom *Pleurotus sajor-caju*. **Peptides**, v.25, p. 11–17, 2004.
- OBODAI, M.; CLELAND-OKINE, J.; VOWOTOR, K.A. Comparative study on the growth and yield of *Pleurotus ostreatus* mushroom on different lignocellulosic by-products. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, v.30, p. 146–149, 2003.
- PAZ, M.F.; VIEIRA, E.; BREYER, C.A.; GIOVANNI, R.N.; Bertoldi, F.C. Cultivo de *Pleurotus sajor-caju* em bagaço de Uva Isabel. **Evidência**, v. 6, p. 187-194, 2006.
- PEDRA, W.N.; MARINO, R.H. Cultivo axênico de *Pleurotus* spp. em serragem da casca de coco (*Cocos nucifera* Linn.) suplementada com farelo de arroz e/ou de trigo. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.73, n.2, p.219-225, 2006.
- RAINEY, P.B.; COLE, A.L.J.; FERMOR, T.R.; WOOD, D.A. A model system for examining involvement of bacteria in basidiome initiation of *Agaricus bisporus*. **Mycological Research**, v.94, n.2, p.191-195, 1990.
- SÁNCHEZ, A.; YSUNZA, F.; BELTRÁN-GARCÍA, M.J.; ESQUEDA, M. Biodegradation of Viticulture Wastes by *Pleurotus*: A Source of Microbial and Human Food and Its Potential Use in Animal Feeding. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, v.50, p. 2537-2542, 2002.
- SAVÓN, R.C.B.; QUEVEDO, H.J.M.; FERNÁNDEZ, C.D.; MANRIQUE, C.E.M.; SEVILLA, E.I.R. Influencia de la luz en la calidad proteica de *Pleurotus ostreatus* var. *Florida*. **Revista Cubana de Investigación Biomedica**, v.22, n.4, p.226-31, 2003.
- SILVA, S.O.; COSTA, S.M.G.; CLEMENTE E. Chemical composition of *Pleurotus pulmonarius* (Fr.) Quél., substrates and residue after cultivation. **Brazilian Archives of Biology and Biotechnology**, v. 45, nº 4, p. 531-535, 2002.
- URBEN, A.F. **Produção de cogumelos por meio de tecnologia chinesa modificada**. Brasília: EMBRAPA Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2004. 186p.
- YANG, J.H.; LIN, H.C.; MAU, J.L. Antioxidant properties of several commercial mushrooms. **Food Chemistry**, v. 77, p. 229–235, 2002.
- YILDIZ, S.; YILDIZ Ü.C.; GEZER, E.D.; TEMİZ, A. Some lignocellulosic wastes used as raw material in cultivation of the *Pleurotus ostreatus* culture mushroom. **Process Biochemistry**, v.38, p. 301–306, 2002.

Vanderleia Rettore, Rodrigo Nogueira Giovanni, Marcelo Fossa da Paz

ZANETTI, A.L.; RANAL, M.A. Suplementação da cana-de-açúcar com guandu no cultivo de *Pleurotus* sp. 'Florida'. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.32, p.959-964, 1997.

Recebido em 6 de maio de 2012

Aceito em 20 de maio de 2012