

PRODUÇÃO DE *Lentinula edodes* EM TORAS DE HÍBRIDOS DE *Eucalyptus grandis* E *Eucalyptus urophylla*

Dalvan Pereira Abilio¹
Gabriel Lacorte Pires de Oliveira²
Olívia Gomes Martins³
Suelen da Silva Motta⁴
Otavio Augusto Pessotto Alves Siqueira⁵
Meire Cristina Nogueira de Andrade⁶

RESUMO: O objetivo deste trabalho foi avaliar a produtividade de cinco linhagens de *Lentinula edodes* (LE-240, LE-241, LE-243, LE-244 e BP-245), e avaliar e comparar seu valor nutricional, inteiros ou em partes, produzidos em toras de um clone de eucalipto. Foram avaliados: a composição química da madeira antes e após o ciclo de cultivo; a massa e o número de basidiomas produzidos pelas linhagens; bem como o teor de proteínas dos cogumelos inteiros, dos estípetes e píleos. As médias do teor de proteínas dos cogumelos inteiros variaram de 11,16 a 15,78%, sendo que as linhagens LE-240 e BP-245 obtiveram as maiores médias. A linhagem LE-241 obteve melhor desempenho produtivo, apresentando maior produção em massa de basidiomas e maior decomposição no teor de holocelulose. O presente estudo evidencia a importância da escolha de uma linhagem adaptada às condições climáticas da região de cultivo, pois as linhagens podem diferir em produtividade e qualidade nutricional.

PALAVRAS-CHAVE: Eficiência biológica; Eucalipto; Proteínas; Shiitake; Valor nutricional.

¹ Graduando em Ciências Biológicas pelo Centro Universitário Sagrado Coração – Unisagrado, Bauru (SP), Brasil.

² Bacharel em Nutrição pelo Centro Universitário Sagrado Coração – Unisagrado, Bauru (SP), Brasil.

³ Doutoranda em Agronomia (Energia na Agricultura) pela Faculdade de Ciências Agrônomicas, Universidade Estadual Paulista "Julio de Mesquita Filho" (UNESP), Botucatu (SP), Brasil.

⁴ Mestre em Ciência e Tecnologia Ambiental pelo Centro Universitário Sagrado Coração – Unisagrado, Bauru (SP), Brasil.

⁵ Mestre em Agricultura, pela Faculdade de Ciências Agrônomicas, Universidade Estadual Paulista "Julio de Mesquita Filho" (UNESP), Botucatu (SP), Brasil

⁶ Doutora em Agronomia, docente permanente do Programa de Pós-graduação em Agronomia (Energia na Agricultura), Faculdade de Ciências Agrônomicas, Universidade Estadual Paulista "Julio de Mesquita Filho" (UNESP), Botucatu (SP), Brasil. E-mail mcnandrade@hotmail.com

PRODUCTION OF *Lentinula edodes* IN WOOD FROM HYBRID *Eucalyptus grandis* AND *Eucalyptus urophylla*

ABSTRACT: The productivity of five strains of *Lentinula edodes* (LE-240, LE-241, LE-243, LE-244 and BP-245) is evaluated and their nutritional rates assessed and compared, totally or in parts, produced in wood from eucalyptus clone. The chemical composition of the wood before and after the culture cycle, mass and number of basidioma produced by the strains, protein rates of entire mushrooms, stipites and pilei were evaluated. Mean protein rates of entire mushrooms varied between 11.16 and 15.78%, with strains LE-240 and BP-245 featuring the highest rates. LE-241 had the best production performance, with the greatest production in basidium mass and greater decomposition of holocellulose rates. Current assay evidenced the importance of strain choice adapted to climatic conditions of the culture region. Strains may actually differ in productivity and nutritional quality.

KEY WORDS: Biological efficiency; Eucalyptus; Nutritional value; Proteins; Shiitake.

INTRODUÇÃO

Os cogumelos comestíveis são um alimento de qualidade nutricional elevada e vêm sendo apontados como uma alternativa para acrescentar a oferta de proteínas em países com alto índice de desnutrição (ISHARA; SILA; KENJI, 2018). O cogumelo Shiitake (*Lentinula edodes* (Berk.), Pegler), devido ao seu sabor apreciável e as suas propriedades nutricionais e medicinais, é o segundo cogumelo mais consumido no mundo (MATA; SALMONES; PÉREZ-MERLO, 2016).

No cultivo de *L. edodes* em toras, um dos principais fatores que podem interferir na produção de basidiomas é, entre outros, a linhagem do fungo, pois a mesma pode diferir quanto à velocidade de crescimento, resistência a contaminantes, temperatura e umidade ótimas, tamanho e forma dos basidiomas e produtividade (ATHAYDE *et al.*, 2010).

No entanto, por ser uma cultura recente no Brasil, os produtores vêm enfrentando problemas de identificação das linhagens mais viáveis, resultando em inconstância de produção. Por isso se faz necessário o estudo de linhagens mais

eficientes e que consigam adaptar-se a diferentes regiões e climas (MENOLLI-JUNIOR; PACCOLA-MEIRELLES, 2010).

Simultaneamente ao problema de identificação de linhagens viáveis para cultivo, no Brasil, pouco se sabe sobre a qualidade dos cogumelos comestíveis cultivados em toras, como é o caso do Shiitake. Assim, a maioria das informações nutricionais citadas em embalagens de Shiitake *in natura* é baseada principalmente em literaturas estrangeiras cujo substrato de cultivo e linhagem fúngica é comumente diferente das condições nacionais.

Informações a respeito da composição dos alimentos vêm se tornando muito importante para profissionais das áreas da saúde e de alimentos, sendo que o consumidor também tem buscado produtos de boa qualidade (GUTHRIE; MANCINE; LIN, 2015). Portanto, o presente trabalho teve como objetivo geral avaliar e comparar a produtividade e valor nutricional de cinco linhagens de *L. edodes* (LE-240, LE-241, LE-243, LE-244 e BP-245), quando produzidos em toras de um clone de eucalipto.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado em uma estufa experimental 6 x 4m, na Universidade do Sagrado Coração (USC), localizada na cidade de Bauru (SP). O delineamento experimental foi casualizado com cinco tratamentos (linhagens) e 20 repetições, totalizando assim 100 unidades experimentais (toras).

2.1 OBTENÇÃO DO INÓCULO E SUBSTRATO

Foram testadas as seguintes linhagens de *L. edodes*: LE-240, LE-241, LE-243, LE-244 e BP-245, sendo as quatro primeiras doadas pela empresa Quadrante Natural, de Lisboa, Portugal, e a BP-245 fornecida pela empresa Funghi & Flora, de Valinhos (SP). Os inóculos das linhagens foram previamente preparados pela empresa Funghi & Flora. A confecção de inóculo consiste da adição de frações do micélio à cavilhas de madeira esterilizadas, que são colonizadas pelo fungo. O cultivo foi realizado

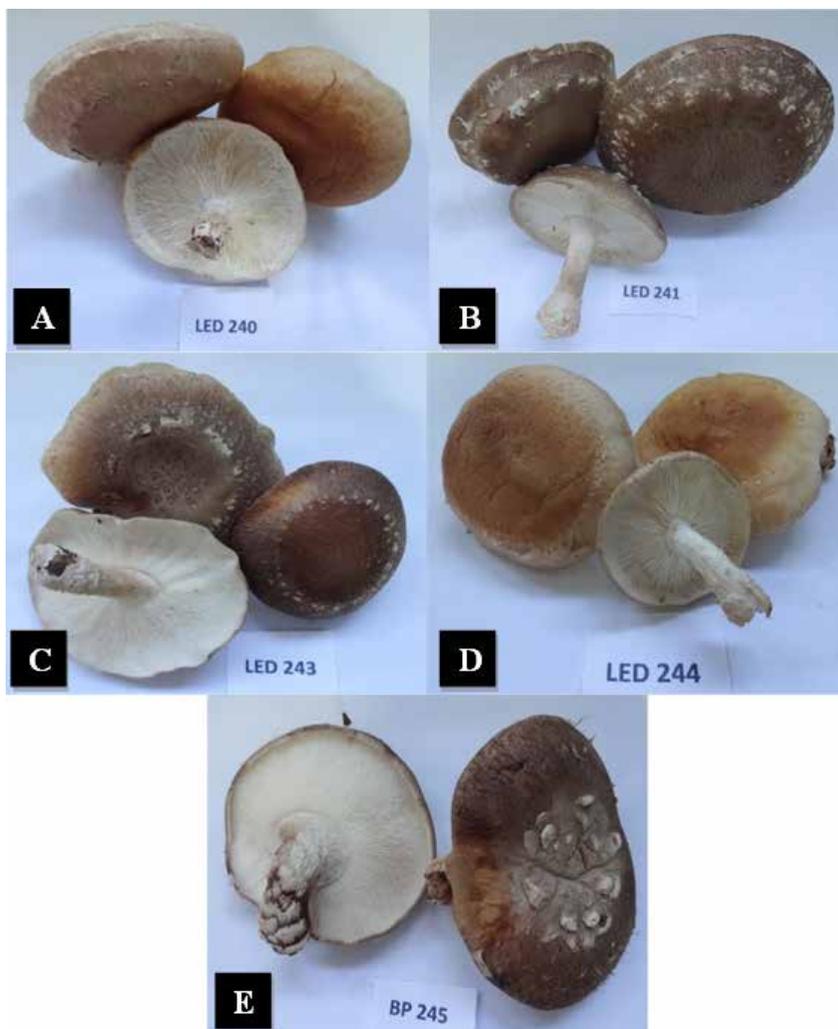
em toras de um clone de eucalipto (híbridos de *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla*) plantado em 2009, primeiro corte, com 10 a 14 cm de diâmetro, obtidos da Fazenda Experimental da Faculdade de Ciências Agronômicas (FCA/UNESP), localizada em Botucatu (SP).

2.2 INOCULAÇÃO E INCUBAÇÃO

A inoculação das toras se deu no dia seguinte após o corte. Foram feitos orifícios ao longo de cada tora com profundidade de 20mm e diâmetro de 12mm. Os orifícios foram preenchidos com o inóculo. Após inoculadas as toras foram colocadas em uma estufa para o período de incubação. A irrigação diária foi feita por microaspersores de alta vazão (15 L h⁻¹) mantendo-se a umidade relativa do ar entre 60 a 90% e temperatura entre 25 a 35 °C.

2.3 CHOQUE DE INDUÇÃO, PRODUÇÃO E COLHEITA

A primeira indução para a formação de basidiomas ocorreu após 5 meses de incubação das toras, quando se observou o surgimento de primórdios. A indução foi feita por imersão das toras em caixa d'água por 24 horas. Os primeiros primórdios surgiram em média cinco dias após a indução. Os basidiomas foram colhidos quando o píleo apresentou abertura de 70-80% de acordo com cada linhagem (Figura 1). Após a colheita, as toras voltaram à incubação até a próxima indução, que ocorreu após 3 meses. Este processo foi repetido novamente, portanto foram feitas três induções, resultando em três fluxos de produção.



A = LE-240; B = LE-241; C = LE-243; D = LE-244; E = BP-245.

Figura 1. Características morfológicas das linhagens de *Lentinula edodes*

Fonte: elaborado pelo autor.

2.4 MASSA E NÚMERO DE BASIDIOMA FRESCO

A massa de basidioma fresco foi determinada com auxílio de uma balança analítica e a determinação do número de basidiomas foi realizada por meio da contagem.

2.5 CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DO SUBSTRATO

A caracterização química do eucalipto, recém-cortado e ao final do ciclo de cultivo, foi realizada de acordo com as seguintes metodologias:

Extrativos totais: TAPPI T 264 cm - 97 (TAPPI, 1999)

Lignina: TAPPI T 222 om - 83 (TAPPI, 1999)

Holocelulose: 100 - % Extrativos totais - % Lignina

Estas análises foram realizadas no Departamento de Recursos Naturais - Laboratório de Análises Químicas - FCA/UNESP, Botucatu (SP).

2.6 ANÁLISE DE TEORES DE PROTEÍNAS

A análise de teores de proteínas foi conduzida no Laboratório de Análises de Alimentos da Universidade do Sagrado Coração (USC), segundo a metodologia da AOAC (1997). A determinação de proteínas foi realizada a partir da determinação do teor de nitrogênio pelo processo de digestão Kjeldahl. O fator de conversão do N para proteína utilizado foi 4,38, o qual leva em consideração a exclusão do N não-proteico da quitina da parede celular dos fungos (CHANG; MILES, 2004) para evitar a superestimação proteica. Foram analisadas 3 partes do basidioma (inteiro, píleo e estípite) por linhagem, em triplicatas, totalizando 45 amostras de 100 g.

2.7 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey, a um nível de 5% de significância (SNEDECOR; COCHRAN, 1972). Utilizou-se o programa SISVAR 4.2 desenvolvido pelo Departamento de Ciências Exatas, da Universidade Federal de Lavras (UFLA).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DO SUBSTRATO

As análises dos substratos inicial (eucalipto recém-cortado) e final (eucalipto após o ciclo de produção) seguem descritas na Tabela 1. O teor de extrativos totais

da madeira aumentou durante o ciclo de cultivo para todas as linhagens (Tabela 1). Esse aumento, segundo Andrade *et al.* (2010), se dá devido à diminuição do teor de holocelulose da madeira degradada pelo fungo.

Tabela 1. Análise química da madeira [Extrativos totais (E), lignina (L) e holocelulose (H)]

MADEIRA	TEOR DAS ANÁLISES		
	E (%)	L (%)	H (%)
CONTROLE (Recém-cortada)	1,16 ^D	23,03 ^A	83,43 ^A
Inoculada com BP-245	4,46 ^B	20,41 ^{BC}	79,48 ^B
Inoculada com LE-240	3,72 ^C	18,39 ^{CD}	80,50 ^B
Inoculada com LE-241	3,47 ^C	21,80 ^{AB}	79,39 ^B
Inoculada com LE-243	5,33 ^A	17,55 ^D	79,88 ^B
Inoculada com LE-244	5,61 ^A	17,10 ^D	79,99 ^B
CV (%)	4,32	2,94	0,85
DMS	0,70	2,30	2,72

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferenciam entre si (Tukey, 5%).

CV= Coeficiente de variação; DMS= Diferença mínima significativa.

Silva *et al.* (2014) observaram que a ação de fungos basidiomicetos em clones de híbridos *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla* também levou ao aumento no teor de extrativos totais na madeira. Segundo estes autores, isso ocorreu porque, possivelmente, os fungos causaram a degradação dos constituintes da parede celular (holocelulose e lignina) da madeira, tornando-os mais solúveis.

Houve uma redução no teor de lignina ao final do ciclo produtivo, sendo que as linhagens de *L. edodes* apresentaram diferenças nestes teores entre si. Montoya, Sánchez e Levin (2014) avaliaram quatro espécies de fungos inoculadas em substrato de madeira, constatando que o *L. edodes* degradou a maior porcentagem de lignina, entre as espécies analisadas. Já Silva *et al.* (2014), ao comparar dois fungos basidiomicetos, perceberam que houve diferença significativa entre eles, quanto à degradação de lignina.

Os teores de holocelulose da madeira antes da inoculação e após o ciclo de produção tiveram um declínio. O coeficiente de variação da holocelulose

permaneceu em torno de 0,85, valor dentro do constatado por Silva *et al.* (2014). Segundo os mesmos autores, isto indica que os fungos podem ser classificados como causadores de podridão branca na madeira. Essa diferença pode ser maior se ao invés de analisar o fator linhagem, for analisado o fator eucalipto (espécies e clones) (ANDRADE *et al.*, 2010).

3.2 PRODUTIVIDADE

3.2.1 Massa de basidioma fresco

Ocorreu uma queda na produção em massa de basidiomas, na maioria das linhagens, comparando os três fluxos de produção (Figura 2), com exceção da linhagem BP-245, que aumentou a sua produção no segundo fluxo.

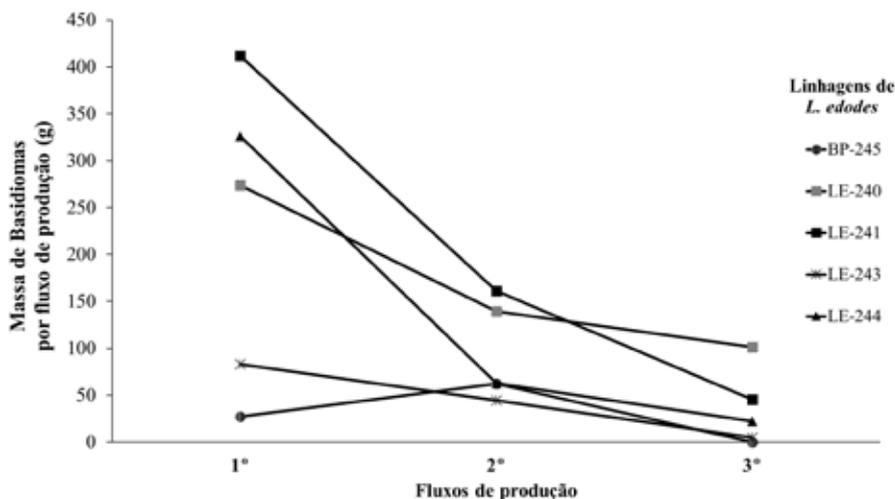


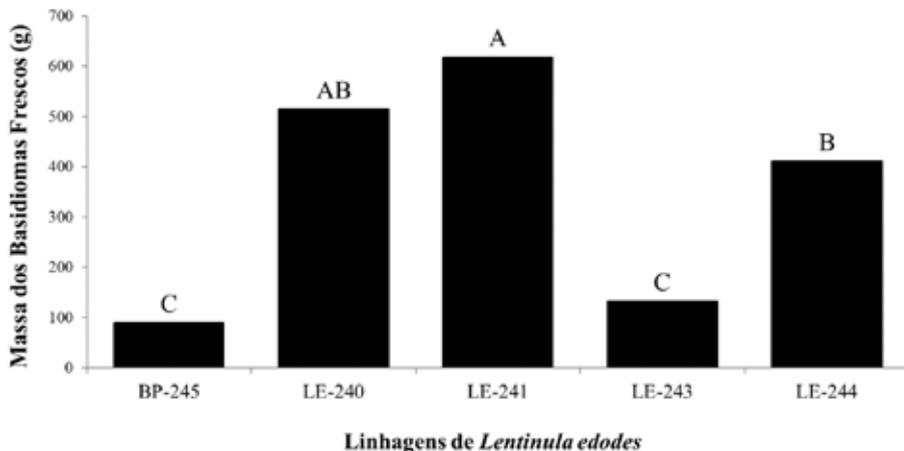
Figura 2. Massa de basidiomas frescos das linhagens de *L. edodes* em cada fluxo de produção.

Fonte: elaborado pelo autor.

Tratch e Keiser (2004) também constataram em seu trabalho que houve um aumento da produtividade das linhagens analisadas na segunda colheita; segundo os autores isto ocorreu devido à colonização parcial do alburno do eucalipto na primeira colheita. Andrade *et al.* (2007) verificaram em seu trabalho que há diferenças entre

as linhagens de *L. edodes*, quanto à velocidade de colonização micelial. Isto pode servir como uma possível justificativa para a demora na colonização da linhagem BP-245.

Ao analisar a produtividade total em massa de basidiomas (Figura 3), a LE-241 apresentou a maior produtividade, 618,1g por tora. Esses valores foram semelhantes aos constatados por Neves e Graciolli (2008), já que a média de produção considerada normal é de 200g de cogumelo fresco/tora em cada fluxo. A BP-245 obteve o pior rendimento nos três fluxos, produzindo 89,4 por tora, abaixo do esperado. Esses dados evidenciam, assim como constataram Andrade *et al.* (2007), que a produção de *L. edodes* em toras varia de acordo com a linhagem.



Média de 20 repetições (toras de eucalipto). Médias seguidas de mesma letra não diferenciam entre si (Tukey, 5%).

Figura 3. Massa acumulada de basidiomas frescos das linhagens de *L. edodes* nos três fluxos de produção.

Fonte: elaborado pelo autor.

3.2.2 Número de basidioma fresco

Houve uma tendência de declínio na produção das linhagens em número de basidiomas ao longo dos três fluxos de produção, como mostra a Figura 4. Apesar disso as linhagens BP-245, LE-240, LE-243 apresentaram um pequeno aumento no número de basidiomas no segundo fluxo. Assim como ocorreu com a massa, pode-

se justificar esse acontecimento à demora na colonização do fungo.

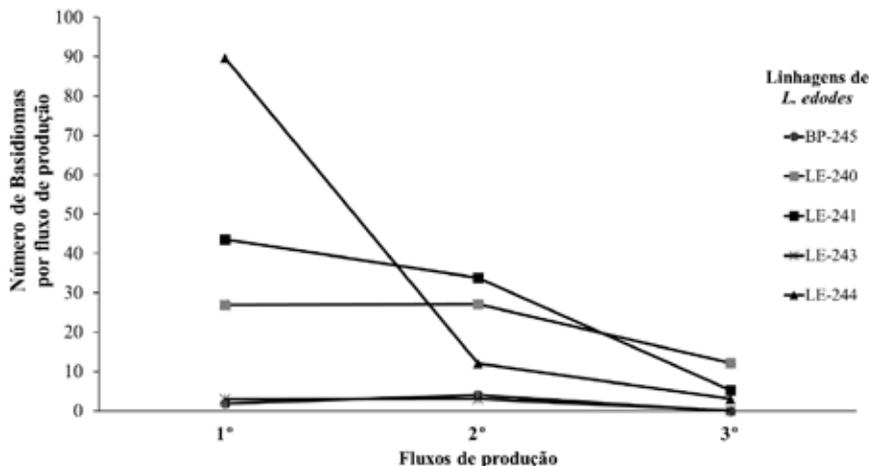
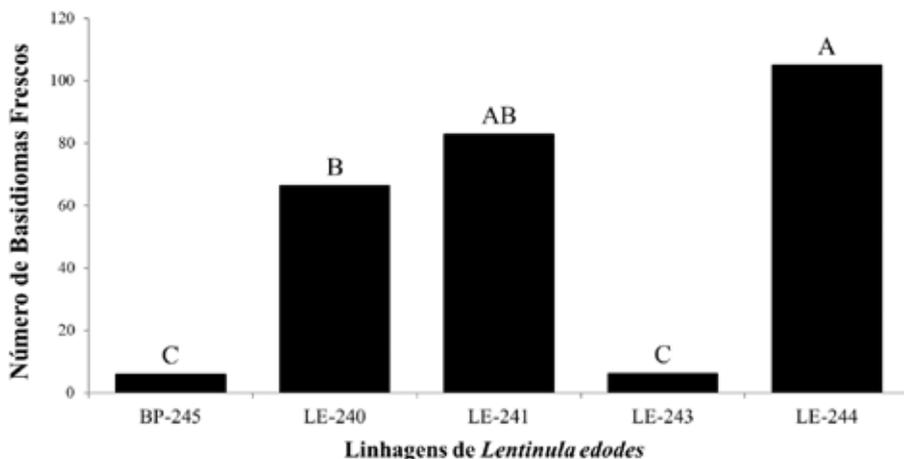


Figura 4. Número de basidiomas frescos das linhagens de *L. edodes* em cada fluxo de produção.
Fonte: elaborado pelo autor.

Segundo Minhoni *et al.* (2007) a formação dos primórdios é a fase mais sensível às interferências do ambiente; fatores como excesso de umidade e alta temperatura podem retardar ou inibir a colonização do substrato. Apesar de as toras terem sido expostas às mesmas condições ambientais, as linhagens mais adaptadas a essas condições apresentaram melhor desempenho.

Houve diferença significativa entre as linhagens quanto ao número de basidiomas produzidos ao término do ciclo de cultivo (Figura 5). Andrade *et al.* (2007) também avaliaram linhagens de *L. edodes* e perceberam que essas tiveram diferenças significativas entre si, bem como apresentaram diferenças no diâmetro do píleo, justificando a variação no tamanho dos cogumelos. Apesar da linhagem LE-244 ter produzido o maior número de basidiomas nos três fluxos, foi a terceira linhagem com maior produção em massa. Estes fatos levam a concluir que a LE-244 produziu basidiomas menores. Já a LE-241 apesar de ter tido maior produção em massa, foi a segunda com maior número de basidiomas produzidos, sugerindo basidiomas maiores.



Média de 20 repetições (toras de eucalipto). Médias seguidas de mesma letra não diferenciam entre si (Tukey, 5%).

Figura 5. Número acumulado de basidiomas frescos das linhagens de *L. edodes* nos três fluxos de produção.

Fonte: elaborado pelo autor.

3.3 TEORES DE PROTEÍNAS

Os valores médios dos teores de proteínas das linhagens LE-240, LE-241, LE-243, LE-244 e BP-245 de *L. edodes* estão apresentados na Tabela 2. As médias de proteínas de amostras de cogumelos inteiros variaram de 11,16 a 15,78%, sendo que as linhagens LE-240 e BP-245 obtiveram as maiores médias. Valores semelhantes foram obtidos por Balbi *et al.* (2013), apontando que o *L. edodes* contém 17,14% de proteínas. Já De Pauli (2010) encontrou média de 21,7% de proteínas, cujo valor é superior aos resultados obtidos no presente trabalho.

Tabela 2. Valores totais médios de proteínas das linhagens LE-240, LE-241, LE-243, LE-244, e BP-245 de *L. edodes*, em função das partes do basidioma analisado

Linhagens	Partes do Basidioma		
	Inteiro	Píleo	Estípete
	Proteínas (%)		
LE-240	14,64 ^{Aa}	15,25 ^{Ba}	8,36 ^{Ab}
LE-241	14,55 ^{Aa}	14,26 ^{Ba}	6,10 ^{Bb}
LE-243	14,03 ^{Aa}	14,01 ^{BCa}	6,78 ^{ABb}
LE-244	11,16 ^{Ba}	11,82 ^{Ca}	5,79 ^{Bb}
BP-245	15,78 ^{Ab}	18,34 ^{Aa}	8,56 ^{Ac}

Para cada variável, médias seguidas de letras maiúsculas iguais em cada coluna e minúsculas em cada linha não diferem entre si (Tukey, 5%).

Nas amostras do píleo de basidiomas, as médias de proteína variaram de 11,82 a 18,34%, sendo que as linhagens LE-240 e BP-245 obtiveram as maiores médias. Nas amostras de estípete, as médias variaram de 5,79 a 8,56%, sendo que as linhagens LE-240 e BP-245 obtiveram as maiores médias. Comparando-se o teor de proteína entre as partes do basidioma para cada linhagem, verifica-se que o estípete apresentou as menores médias em relação ao píleo ou ao basidioma inteiro (Tabela 2).

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A linhagem LE-241 obteve melhor desempenho produtivo, apresentando maior produção em massa de basidiomas e maior decomposição no teor de holocelulose, evidenciando assim a importância da holocelulose para a nutrição do *L. edodes*. As linhagens de *L. edodes*, assim como as partes dos basidiomas analisados (inteiro, píleo ou estípete), influenciaram na composição das amostras.

O presente estudo evidencia a importância da escolha de uma linhagem adaptada às condições climáticas da região de cultivo, pois as linhagens podem diferir em produtividade e qualidade nutricional.

5 AGRADECIMENTO

Os autores agradecem à Fundação de Amparo à Pesquisa da Universidade do Sagrado Coração (FAP/USC), pelo apoio financeiro para realização desta pesquisa e à Empresa Funghi & Flora, por conceder os inóculos de Shiitake utilizados neste estudo.

REFERÊNCIAS

ANDRADE, M. C. N. *et al.* Análise química da madeira e casca de diferentes tipos de eucalipto antes e durante o cultivo de shiitake em toras. **R. Árvore**, Viçosa, v. 34, n. 1, p. 165-175, 2010.

ANDRADE, M. C. N. *et al.* Avaliação do crescimento micelial de linhagens de shiitake, da produção em toras de eucalipto e de alterações físicas da madeira. **Acta Sci. Agron.**, Maringá, v. 29, n. 1, p. 23-27, 2007.

AOAC. **Official Methods of Analysis of the AOAC**. 16. ed. Association of Official Agricultural Chemists. Arlington, VA, EEUU, 1997.

ATHAYDE, M. B. *et al.* Influência da temperatura no crescimento micelial de linhagens de *Lentinula edodes*. **Ambiência**, v. 6, n. 3, p. 503-509, 2010.

BALBI, M. E. *et al.* Análise nutricional e perfil aminoácido de cogumelos shiitake (*Lentinus edodes*, *Agaricaceae*). **Visão Acadêmica**, Curitiba, v. 14, n. 4, out./dez. 2013.

CHANG, S. T.; MILES, P. G. **Mushrooms: cultivation, nutritional value, medicinal effect, and environmental impact**. 2. ed. Boca Raton: CRC press, 2004.

DE PAULI, P. A. **Avaliação da composição química, compostos bioativos e atividade antioxidante em cogumelos comestíveis**. 2010. 73 f. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Araraquara, 2010.

GUTHRIE, J.; MANCINO, L.; LIN, C. T. J. Nudging consumers toward better food choices: policy approaches to changing food consumption behaviors. **Psychology & Marketing**, v. 32, n. 5, p. 501-511, 2015.

ISHARA, J. R. M.; SILA, D. N.; KENJI, G. M. **Edible mushrooms: new food fortification approach toward food security**. Riga: LAP LAMBERT Academic

Publishing, 2018.

MATA, G.; SALMONES, D.; PÉREZ-MERLO, R. Hydrolytic enzyme activities in shiitake mushroom (*Lentinula edodes*) strains cultivated on coffee pulp. **Revista Argentina de microbiologia**, v. 48, n. 3, p. 191-195, 2016.

MENOLLI-JUNIOR, N.; PACCOLA-MEIRELLES, L. D. Obtenção de linhagens de *Lentinula edodes* resistentes a temperaturas elevadas seleção de linhagens resistentes ao *Trichoderma* sp. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 34, Edição Especial, p. 1640-1646, 2010.

MINHONI, M. T. A. *et al.* Thermal and mechanical shocks affecting the first flush of production of *Lentinula edodes* on *Eucalyptus saligna* logs. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v. 38, n. 2, p. 200-203, abr./jun. 2007.

MONTOYA, S. B.; SÁNCHEZ, O. J. T.; LEVIN, L. Evaluación de actividades endoglucanasa, exoglucanasa, lacasa y lignina peroxidasa en diez hongos de pudrición blanca. **Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial**, Popayán, Colombia, v. 39, n. 2, p. 115-124, jul./dez. 2014.

NEVES, C. F. de Q.; GRACIOLLI, L. A. Caracterização da produção em toras do cogumelo comestível *Lentinula edodes* (Berk.) Pegler na região oeste do Estado de São Paulo. **Acta Sci. Agron.**, Maringá, v. 30, n. 4, p. 487-494, 2008.

SILVA, L. F. *et al.* Deterioração da madeira de *Eucalyptus spp.* por fungos xilófagos. **Cerne**, Lavras, v. 20, n. 3, p. 393-400, 2014.

SNEDECOR, G. W.; COCHRAN, W. G. **Statistical methods**. 6. ed. Ames: Iowa State Univ., 1972.

TECHNICAL ASSOCIATION OF THE PULP AND PAPER INDUSTRY - TAPPI. **Normas técnicas**. Atlanta: 1999.

TRATCH, R.; KEISER, G. S. Avaliação de isolados de *Lentinula edodes* (Berk) Pegler (Shitake) em diferentes substratos. **Ciências Agrárias e Ambientais**, Curitiba, v. 2, n. 4, p. 11-14, out./dez. 2004.

Recebido em: 17/07/2018

Aceito em: 27/01/2020